

Deri Endüstrisinde Kullanılan Metilizotiazolinon İçeren Antimikrobiyal Maddenin Referans Suşlar Üzerine Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

Pınar ÇAĞLAYAN

Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İSTANBUL

*e-mail: pinar.caglayan@marmara.edu.tr

Öz: Deri endüstrisinde tuzlanmış deriye kaybettiği suyun geri kazandırılması, derinin yumuşatılması, derideki tuzun, kanın, gübrenin, pisliğin ve mikroorganizmaların uzaklaştırılması amacıyla ıslatma işlemi uygulanmaktadır. Islatma işlemi bakterilerin gelişmesi için oldukça uygun bir ortam olup, bu süreçte derilerde önemli hasarlar meydana gelmektedir. Islatılmış deriler antimikrobiyal maddelerle muamele edilmesine rağmen, bu derilerin kalitesini olumsuz etkileyebilecek gram-pozitif ve gram-negatif bakterileri içerdikleri bilinmektedir. Antimikrobiyal maddelerin az ve rastgele kullanılması bu bakterilerin sayılarının kontrol edilmesinde yetersiz kaldığı gibi, fazla kullanılması da antimikrobiallere dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Uygun antimikrobiyal madde seçimi derilerde bakterilerden kaynaklanan zararın önlenmesi açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle, deri endüstrisinde kullanılan bir antimikrobiyal maddenin referans bakteri suşlarına karşı uygulanması ve minimum inhibisyon konsantrasyonunun araştırılması, deri işlenmesi basamaklarında deriye zarar verebilecek bakterilerin üzerine bu antimikrobiyal maddenin etkinliğinin belirlenmesi açısından önemli bilgi verecektir. Bu çalışmada gram-negatif ve gram-pozitif referans suşları ve bunların karışık kültürü üzerine metilizotiazolinon içeren antimikrobiyal maddenin onsekiz farklı konsantrasyonu uygulanarak minimum inhibisyon konsantrasyonu agar dilüsyon metodu ile araştırılmıştır. Minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC29213, *Micrococcus luteus* ATCC9341, ve tüm test bakterilerinin karışık kültürü için 5000 µg/ml; *Escherichia coli* ATCC25922 için 1250 µg/ml; *Bacillus cereus* ATCC11778 için 156 µg/ml; *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 ve *Enterococcus faecalis* ATCC29212 için 39 µg/ml; ve *Bacillus subtilis* ATCC6633 için ise 9.76 µg/ml olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, test edilen antimikrobiyal maddenin sekiz farklı referans suşun ve bunların karışık kültürünün gelişimlerini inhibe ettiği ve etki spektrumunun geniş olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal madde, Gram-pozitif bakteri, Gram-negatif bakteri, Minimum inhibisyon konsantrasyonu

Minimum Inhibition Concentration of an Antimicrobial Agent Containing Methylisothiazolinone Used in Leather Industry Against Reference Strains

Abstract: In leather industry soaking process is applied to salted hides and skins in order to rehydrate, to soften, to remove the salt, blood, dung, dirt and microorganisms. The soaking process is a favorable environment for bacterial growth, and during this process significant damage occurs on the hides and skins. It is known that soaked hides/skins contain Gram-positive and Gram-negative bacteria, which can adversely affect hide/skin quality even though they are treated with antimicrobial agents. Insufficient and random use of antimicrobial agents is inadequate in controlling the numbers of these bacteria, and excessive use of them also leads to the emergence of antimicrobial-resistant bacteria. The choice of appropriate antimicrobial agent is very important in preventing damage caused by bacteria found on the hides. Therefore, application of methylisothiazolinone-containing antimicrobial agent used in the leather industry against reference bacterial strains and investigation of the minimum inhibitor concentration will provide important information on the effectiveness of this antimicrobial agent on bacteria that may be harmful to hides in leather processing. In the present study, the eighteen different concentration of antimicrobial agent containing methylisothiazolinone were applied against Gram-negative (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC25922) and Gram-positive (*Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *Staphylococcus aureus* ATCC29213, *Micrococcus luteus* ATCC9341, *Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Bacillus cereus* ATCC11778, *Bacillus subtilis* ATCC6633) reference strains and their mixed culture. The minimum inhibitor concentrations were determined using agar dilution method. The minimum inhibitor concentrations of antimicrobial agent were found as 5000 µg/ml for *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC29213, *Micrococcus luteus* ATCC9341,

mixed culture of test bacteria; 1250 µg/ml for *Escherichia coli* ATCC25922; 156 µg/ml for *Bacillus cereus* ATCC11778; 39 µg/ml for *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 and *Enterococcus faecalis* ATCC29212; and 9.76 µg/ml for *Bacillus subtilis* ATCC6633. As a result, it was determined that the tested antimicrobial agent inhibited the growth of eight different reference strains and their mixed culture, and that spectrum of action was broad.

Keywords: Antimicrobial agent, Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, Minimum inhibition concentration

1. Giriş

Dericilik sektörü ülkemizde son yıllarda gelişme göstererek Türkiye'nin önemli sektörleri arasında yerini almıştır. Tuzlanmış ve ıslatılmış deriler kesim, istifleme, depolama ve taşıma sırasında, üzerlerinde bulunan bakterilerin gelişimini ve bu bakterilerin deriye verebilecekleri zararları önlemek amacıyla tuz, borik asit ve çeşitli antimikrobiyal maddelerle korunmaktadır (Adminis ve Money, 2003). Deriler çeşitli yöntemlerle korunduğu halde, hayvan kesildikten sonra hayvanın vücudundan, havadan, sudan, kesimhaneden, dışkıdan, topraktan, dış ortamdan bulaşan gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler kendileri için ideal bir besin ortamı olan deride gelişmektedir (Newton ve ark., 1977; Antic ve ark., 2010). Araştırmacılar bu durumun derinin yapısının bozulmasına, deride sırça zararına, kıl dökülmesine, kötü koku oluşumuna yol açtığını saptamışlardır (Haines, 1984; Bailey ve Birbir, 1993). Daha önce yapılan çalışmalarda çeşitli gram-pozitif, gram-negatif bakteri türleri tuzlanmış ve ıslatılmış hayvan derilerinden izole edilmiştir (Berber ve Birbir, 2010; Aslan ve Birbir 2011; Aslan ve Birbir 2012; Akpolat ve ark., 2015; Çağlayan ve ark., 2015; Ulusoy ve Birbir, 2015; Birbir ve Yazıcı, 2016).

Kaliteli deri üretiminin deri endüstrisindeki ekonomik öneme sahip olması sebebiyle bu çalışmada deri sektöründe kullanılan metilizotiazolinon içeren antimikrobiyal maddenin farklı konsantrasyonları sekiz farklı referans bakteri suşlarına ve bunların karışık kültürlerine karşı uygulanmıştır. Her bir bakteri türüne ve bu bakterilerin karışık kültürüne karşı test antimikrobiyalinin minimum inhibisyon konsantrasyonu ayrı ayrı araştırılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler, deri işleni basamaklarında deriye zarar verebilecek gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin üzerine bu antimikrobiyal maddenin etkin olduğu konsantrasyonun belirlenmesi ve gereksiz kimyasal kullanımının önlenmesi açısından önemli katkıda bulunacaktır.

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada metilizotiazolinon içeren ve deri endüstrisinde ıslatma işleminde kullanılan test antimikrobiyalinin gram-negatif (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ve *Escherichia coli* ATCC25922) ve gram-pozitif (*Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *S. aureus* ATCC29213, *Micrococcus luteus* ATCC9341, *Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Bacillus cereus* ATCC11778 ve

B. subtilis ATCC6633) referans suşları ve bunların karışık kültürünü inhibe ettiği Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değeri agar dilüsyon test metodu ile araştırılmıştır (Anonymous, 2000; Wiegand ve ark., 2008). Antimikrobiyalın 18 farklı konsantrasyonu (10000 µg/ml, 5000 µg/ml, 2500 µg/ml, 1250 µg/ml, 625 µg/ml, 312

µg/ml, 156 µg/ml, 78 µg/ml, 39 µg/ml, 19.5 µg/ml, 9.76 µg/ml, 4.88 µg/ml, 2.44 µg/ml, 1.22 µg/ml, 0.6 µg/ml, 0.3 µg/ml, 0.15 µg/ml ve 0.07 µg/ml) hazırlanarak 19 ml agarlı Nutrient besiyerine Çizelge 1’de gösterildiği şekilde ilave edilmiştir.

Çizelge 1. Farklı konsantrasyondaki antimikrobiyal maddenin hazırlanması

İlk konsantrasyon (µg/ml)	Stok (ml)	Distile su (ml)	19 ml besiyerinin ilavesinden önceki konsantrasyon (µg/ml)	19 ml besiyerinin, 1 ml antimikrobiyal maddenin üzerine ilavesinden sonra son konsantrasyon (µg/ml)
200.000	2	0	200.000	10.000
200.000	2	2	100.000	5000
200.000	1	3	50.000	2500
50.000	2	2	25.000	1250
50.000	1	3	12.500	625
50.000	1	7	6250	312
6250	2	2	3125	156
6250	1	3	1562.5	78
6250	1	7	781.25	39
781.25	2	2	390.63	19.5
781.25	1	3	195.31	9.76
781.25	1	7	97.66	4.88
97.66	2	2	48.83	2.44
97.66	1	3	24.41	1.22
97.66	1	7	12.21	0.6
12.21	2	2	6.10	0.3
12.21	1	3	3.05	0.15
12.21	1	7	1.53	0.07

Stok Antimikrobiyal Madde Solüsyonunun Hazırlanması
Metilzotiazolinon içeren antimikrobiyal maddeden 200.000 mg tartılarak 1000 ml steril distile su ile karıştırılmıştır.

0.5 Nolu McFarland Bulanıklık Standardının Hazırlanması
5 ml 1 Nolu McFarland bulanık tüpündeki çözeltinin üzerine 5 ml distile su eklenerek hazırlanmıştır (Bilgehan, 2004).

1 Nolu McFarland Bulanıklık Standardının Hazırlanması
0.18 M’lık H₂SO₄’ten 9.9 ml alınarak, 0.1 ml 0.048 M’lık BaCl₂ ile karıştırılmıştır (Bilgehan, 2004).

%0.85 NaCl İçeren Nutrient Agar Besiyerinin Hazırlanması
20 g Nutrient Agar, 8.5 g NaCl tartılarak 1000 ml distile su ile karıştırılmıştır. Besiyerinin pH’ı 7.0’ye ayarlandıktan sonra 121°C’de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir.

gram-negatif ve gram-pozitif referans suşlarına ait saf koloniler alınarak ayrı ayrı Nutrient Agar besiyerine ekilmiş ve petri kapları 37°C'de 24 saat etüvde bekletilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra koloni oluşturma birimi (kob) hesaplanması için her bir bakterinin 0.5 McFarland bulanıklık tüpüne göre (10^8 kob/ml) ayrı ayrı bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Her bir referans suşun süspansiyonlarından 1 ml alınarak, 9 ml steril fizyolojik tuzlu su ile karıştırılmıştır. Toplam bakteri yoğunluğu her bir suş için 10^7 kob/ml olmuştur. Ayrı ayrı hazırlanan bu bakteri solüsyonlarından 1 ml alınarak steril bir tüpte karıştırılmıştır ve bakterilerin karışık kültürü (10^7 kob/ml) yapılmıştır (Hammer ve ark., 1999; Anonymous, 2000). Toplam bakteri yoğunluğu 10^7 kob/ml olan solüsyonlardan ayrı ayrı 1 µl alınarak (10^4 kob/damla) petrideki besiyerine konulmuştur. Etüvde 37°C'de 24

saat bekletilerek test antimikrobiyalinin MİK değerleri saptanmıştır (Anonymous, 2000).

3. Sonuçlar

Pseudomonas aeruginosa ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC29213 ve *Micrococcus luteus* ATCC9341 için MİK değeri 5000 µg/ml bulunmuştur (Çizelge 2). *Escherichia coli* ATCC25922 için MİK değeri 1250 µg/ml bulunmuştur (Çizelge 2). *Bacillus cereus* ATCC11778 için MİK değeri 156 µg/ml iken, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 ve *Enterococcus faecalis* ATCC29212 için 39 µg/ml olarak bulunmuştur. *Bacillus subtilis* ATCC6633 için MİK değeri ise 9.76 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 2). Test antimikrobiyalinin farklı konsantrasyonları sekiz adet referans suşun karışık kültürü üzerine uygulandığında MİK değeri 5000 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Amerikan tipi kültür koleksiyonu referans bakteri suşlarının üzerine metilizotiazolinon içeren antimikrobiyal maddenin farklı konsantrasyonlarının minimum inhibitör konsantrasyonları

	Son Konsantrasyon (µg/ml)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC9341	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	<i>Bacillus cereus</i> ATCC11778	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	Karışık kültür
1	10.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	5000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	2500	+	-	+	+	-	-	-	-	+
4	1250	+	-	+	+	-	-	-	-	+
5	625	+	-	+	+	-	+	-	-	+
6	312	+	-	+	+	-	+	-	-	+
7	156	+	-	+	+	-	+	-	-	+
8	78	+	-	+	+	-	+	+	-	+
9	39	+	-	+	+	-	+	+	-	+
10	19.5	+	+	+	+	+	+	+	-	+
11	9.76	+	+	+	+	+	+	+	-	+
12	4.88	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	2.44	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	1.22	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	0.6	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	0.3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	0.15	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	0.07	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : üreme var, - : üreme yok

4. Tartışma

Daha önceki çalışmalarda *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* ve *Staphylococcus* cinslerine ait olan bakterilerin ıslatma sıvılarından izole edildiği bildirilmiştir (Pfleiderer ve Reiner, 1988; Yapıcı ve Yapıcı, 2002; Rangarajan ve ark., 2003; Yapıcı ve ark., 2004). Ayrıca *Bacillus cereus*, *B. laterosporus*, *B. liquefaciens*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *Micrococcus* spp. ve *Pseudomonas aureginosa* türleri de ıslatma sıvılarından izole edilmiştir (Birbir ve Ilgaz, 1996; Orlita, 2004). Diğer bir çalışmada, % 0.4 ticari bakterisit ile ıslatılmış koyun derilerinde proteolitik, lipolitik ve sporlu bakteriler tespit edilmiştir (Bilgi ve

ark., 2009). Berber ve ark. (2010), aktif içeriği didesildimetilamonyum klorür olan antimikrobiyal maddenin ıslatma sıvılarında 0.4 g/l'lik konsantrasyonda uygulandığı bir tabakhaneden ıslatma sıvısı örnekleri almıştır. Bu sıvı örneklerinde yüksek sayıda proteolitik (10^4 - 10^7 kob/ml) ve lipolitik (10^2 - 10^6 kob/ml) bakterilerin varlığı saptanmıştır. Bu tabakhanelerde önerilen 0.4 g/l'lik kullanım konsantrasyonu iki katına (0.8 g/l) çıkarıldığında dahi ıslatma sıvısı içinde proteolitik (10^3 kob/ml) ve lipolitik (10^3 - 10^4 kob/ml) bakterilerin saptandığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Berber ve ark., 2010). Araştırmacılar, bu ıslatma sıvısı örneklerinden *Bacillus mycooides*, *B. lentus*, *B.*

amyloliquefaciens, *Enterobacter gergoviae*, *E. sakazakii*, *E. amnigenus* biogrup I, *E. cloacae*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. luteola*, *P. putida*, *Enterococcus avium*, *E. faecium*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Aerococcus viridans*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *S. capitis*, *S. sciuri*, *S. xylosus*, *S. cohnii* ssp. *urealyticus*, *S. epidermidis*, *S. intermedius*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. cohnii* ssp. *cohnii*, *S. warneri*, *Kocuria varians* türleri izole edilerek tanımladıklarını bildirmişlerdir (Berber ve Birbir, 2010). Veyselova ve ark. (2013) ıslatma sıvılarında kullanılan % 12.5 didesil dimetil amonyum klorür ve % 12.5 benzil dimetil amonyum klorür içeren kuarternler amonyum bileşiğinin *Bacillus licheniformis*, *B. pumilus*, *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas luteola*, *Enterobacter cloacae*, *Vibrio fluvialis* ve *Enterococcus faecium* türleri üzerine ve bu bakterilerin karışık kültür üzerine ayrı ayrı etkisini araştırmıştır. Bileşiğin 2.97 g/l konsantrasyonunun 8 ve 24 saatlik uygulamalarında, 25°C ve 37°C sıcaklıkta bakteriler ve bunların karışık kültürleri tamamen inaktive edilmiştir (Veyselova ve ark., 2013). Birbir ve ark., (2015), aktif içeriği sodyum dimetilditiyokarbamat olan bir antimikrobiyalin minimal inhibisyon etkisini hem *Chromohalobacter israelensis*, *C. canadensis*, *Staphylococcus nepalensis*, *Halomonas halodenitrificans*, *H. halmophila* izolatları üzerine hem de bu izolatların karışık kültürü üzerine uygulayarak araştırmışlardır.

Araştırmacılar *Chromohalobacter israelensis*, *C. canadensis*, *Halomonas halodenitrificans*, *H. halmophila* ve bunların karışık kültürü için MİK değerini 15.6 µg/ml bulmuş iken, *Staphylococcus nepalensis* (KT1) için MİK değerini 0.96 µg/ml olarak bulduklarını bildirmişlerdir (Birbir ve ark., 2015). ıslatılmış sığır ve koyun derilerinde bulunan *Enterobacteriaceae* familyasını ait bakteri türleri Birbir ve Yazıcı (2016) tarafından detaylıca araştırılmıştır. Araştırmacılar, *Citrobacter freundii*, *C. koseri*, *Cronobacter sakazakii*, *Enterobacter amnigenus*, *E. cloacae*, *Kluyvera intermedia*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia rettgerii* türlerini ıslatılmış koyun derilerinden, *Citrobacter koseri*, *Cronobacter sakazakii*, *Ewingella americana*, *Kluyvera intermedia*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgerii*, *Serratia marcescens*, *S. plymuthica* ve *S. rubidae* türlerini ıslatılmış sığır derilerinden izole ettiklerini açıklamışlardır (Birbir ve Yazıcı, 2016). *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *S. aureus* ATCC29213, *Micrococcus luteus* ATCC9341, *Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC11778, *B. subtilis* ATCC6633 suşlarının üzerine ve bunların karışık kültürü üzerine metilizotiazolinon içeren antimikrobiyal maddenin minimum inhibisyon konsantrasyonlarının araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Sonuç olarak, ıslatma

işleminde etkili antimikrobiyal maddelerin önlemesi ve yüksek kaliteli deri üretimi uygun konsantrasyonda kullanımını, bu işlenti açısından oldukça önemlidir. basamağında bulunan bakterilerin gelişiminin

Kaynaklar

Adminis U, Money CA (2003). Short-term preservation of hides and skins. *Leather International* 26.

Akpolat C, Ventosa A, Birbir M, Sánchez-Porro C, Caglayan P (2015). Molecular identification of moderately halophilic bacteria and extremely halophilic archaea isolated from salted sheep skins containing red and yellow discolorations. *J Am Leather Chem As* 110: 211–220.

Anonymous, EUCAST, European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) (2000). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution, EUCAST Definitive Document E. Def 3.1, *Clinical Microbiology and Infection*, 6: 509–515.

Antic D, Blagojevic B, Ducic M, Nastasijevic I, Mitrovic R, Buncic S (2010). Distribution of microflora on cattle hides and its transmission to meat via direct contact. *Food Control* 21: 1025–1029.

Aslan E, Birbir M (2011). Examination of gram-positive bacteria on salt-pack cured hides. *J Am Leather Chem As* 106: 372–380.

Aslan E, Birbir M (2012). Examination of Gram-negative bacteria on salt-pack cured hides. *J Am Leather Chem As* 107: 106–115.

Bailey DG, Birbir M (1993). A study of the extremely halophilic microorganisms found on commercially brine-cured cattle hides. *J Am Leather Chem As* 88: 285–293.

Berber D, Birbir M (2010). Examination of bacterial populations in salt, salted hides, soaked hides and soak liquors. *J Am Leather Chem As* 105: 320–326.

Berber D, Birbir M, Hacıoğlu H (2010). Efficacy assesment of bactericide containing didecyldimethylammonium chloride on bacteria found in soak liquor at different exposure times. *J Am Leather Chem As* 11: 354–359.

Bilgehan H (2004). Clinical microbial identification. *Barış Yayınları*, Ankara, Türkiye.

Bilgi ST, Yapici BM, Yapici AN (2009). Determination of bacterial and fungal numbers in floats of pre-tanning operations. *Afr J Biotechnol* 8: 1602–1607.

- Birbir M, Ilgaz A (1996). Isolation and identification of bacteria adversely affecting hide and leather quality. *J Soc Leath Tech Ch* 80: 147–153.
- Birbir M, Ventosa A, Çağlayan P (2015). Characterization of moderately halophilic bacteria found on the sheep and goat skins. *The Scientific Research Project Commission of Marmara University*, Project number FEN-C-DRP-040712-0281.
- Birbir M, Yazıcı E (2016). Isolation and identification of bacterial species belonging to family *Enterobacteriaceae* on soaked hide and skin samples and determination of their antibiotic susceptibilities to different antibiotics. *The Scientific Research Project Commission of Marmara University*, Project number FEN-C-YLP-041213-0456.
- Çağlayan P, Birbir M, Ventosa A, Sánchez-Porro C (2015). Characterization of moderately halophilic bacteria from the salt-pack cured hides. *J Soc Leath Tech Ch* 5: 250–254.
- Haines MB (1984). Quality rawstock. *J Am Leather Chem As* 4: 164–173.
- Hammer KA, Carson CF, Riley TV (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 86: 985–990.
- Newton KG, Harrision JCL, Smith KM (1977). Coliforms from hides and meat. *J Appl Environ Microbiol* 33: 199–200.
- Orlita A (2004). Microbial biodeterioration of leather and its control: A review. *Int Biodeterior Biodegradation* 53: 157–163.
- Pfleiderer E, Reiner R (1988). Microorganisms in Processing of Leather in Biotechnology.
- Rangarajan R, Didato TD, Bryant S (2003). Measurement of bacterial populations in typical tannery soak solutions by traditional and new approaches. *J Am Leather Chem As* 98: 477–485.
- Ulusoy K, Birbir M (2015). Identification and metabolic activities of bacterial species belonging to the *Enterobacteriaceae* on salted cattle hides and sheep skins. *J Am Leather Chem As* 110: 86–199.
- Veyselova C, Birbir M, Berber D (2013). Minimal bactericidal concentration for a quaternary ammonium compound used in soak liquors. *J Soc Leath Tech Ch* 4(97): 166–171.
- Wiegand I, Hilpert K, Hancock REW (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc* 3: 163–175.
- Yapıcı AN, Yapıcı BM (2002). Deri işletmelerinde karşılaşılan mikrobiyal olaylar ve kullanılan mikrobisidler. *Teknik Bülten* 34.
- Yapıcı BM, Yapıcı AN, Karaboz İ, Tozan M (2004). Deri sektöründe kullanılan bazı bakterisitlerin etkinliğinin tespiti üzerine bir araştırma. *I. Ulusal Deri Sempozyumu*, İzmir, 7-8 Ekim.