

Çiğ balık örneklerinden izole edilen *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* suşlarının gıda güvenliği yönünden bazı özelliklerinin değerlendirilmesi

Evaluation of some food safety-related characteristics of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from raw fish samples

Onur KARAALIOĞLU¹, Sine ÖZMEN-TOĞAY¹, Mustafa AY², Gözde SOYSAL¹, Mine ÇARDAK³,
Ufuk BAĞCI⁴, Özlem EROL-TINAZTEPE⁵

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada çiğ balık örneklerinden izole edilen *Enterococcus faecium* ve *E. faecalis* suşlarının antibiyotik direnç ve virülans genleri taşıma yönünden değerlendirilmesi ve antibakteriyel aktivite potansiyellerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Sardalye, istavrit, barbun ve hamsi örneklerinden Kanamisin Azid Eskülin agar besiyeri kullanılarak izole edilip Gram boyama, katalaz testi, eskülin hidrolizi, pH 9,6 ve %40'lık safra tuzu ortamında üreme, 10°C ve 45°C'de üreme testleri ile cins düzeyinde, API 20 Strep biyokimyasal test kiti ile de tür düzeyinde tanımlanan 33 adet izolatin antibiyotik (streptomisin, kloramfenikol, eritromisin, tetrasiklin, gentamisin ve vankomisin) direnç özellikleri disk difüzyon yöntemiyle ve virülans gen (*agg2*, *gelE*, *cyIA*, *cyIB*, *cyIM*) taşıma durumları ise polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılmıştır. İzolatların referans test bakterilerine (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *L. innocua* ATCC 33090, *E. faecalis* NCIMB 700584, *E. faecium* M74) karşı antibakteriyel aktivite potansiyelleri

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate carrying the antibiotic resistance and virulence genes of *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* strains isolated from raw fish samples and to investigate antibacterial activity potentials.

Methods: Sardine, horse mackerel, red mullet and anchovy samples were analyzed by using Kanamycin Azide Aesculine agar for isolation of enterococci and identified at genus level by Gram staining, catalase test, esculine hydrolysis, growth at pH 9.6, bile salt concentration (40%), 10°C and 45°C and species level by using API 20 Strep biochemical test kits. Antibiotic (streptomycin, chloramphenicol, erythromycin, tetracycline, gentamycin and vancomycin) resistance of 33 enterococcal strains were evaluated by using disk diffusion method. PCR were performed for evaluate the virulence genes (*agg2*, *gelE*, *cyIA*, *cyIB*, *cyIM*). Antibacterial activity potentials against reference test bacterias (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *L. innocua* ATCC 33090, *E. faecalis* NCIMB 700584, *E.*

¹Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Görükle, Bursa

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Programı, Çanakkale

³Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Balıkçılık Teknolojisi Programı, Çanakkale

⁴Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Edirne

⁵Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Çanakkale



İletişim / Corresponding Author : Sine ÖZMEN-TOĞAY

Bursa Uludağ Üni. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü Görükle Kampüsü 16059 Bursa - Türkiye

Tel : +90 533 312 42 14

E-posta / E-mail : sinetogay@uludag.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 11.10.2018

Kabul Tarihi / Accepted : 04.01.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.97268

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

agar damlatma yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Tüm *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarının streptomisine dirençli olduğu, bunun yanında 30 (%90,9) adet izolatta gentamisin, 14 (%42,4) adet izolatta ise yüksek seviye vankomisin direnci belirlenmiştir. Eritromisin antibiyotiğine karşı 32 (%96,7) adet izolatta ara seviyede direnç, tetrasiklin ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı ise sırasıyla 26 (%78,8) ve 30 (%90,9) adet izolatta duyarlılık tespit edilmiştir. İzolatlarda çoklu antibiyotik direnci de gözlemlenmiştir. Ayrıca bazı izolatlarda patojenik fonksiyonu bulunan *gelE* ve *agg2* genlerine rastlanmış, 4 adet izolatta ise β-hemolitik aktivite tespit edilmiştir. Bunun yanında izolatların bazılarında *Staphylococcus aureus* ve *L. monocytogenes*'i de kapsayan test bakterilerine karşı belirgin bir antibakteriyel aktivite potansiyeli tespit edilmiştir.

Sonuç: *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatlarının antibiyotik direnç ve virülans gen taşıma yönünden gıda güvenliği ve halk sağlığı için risk taşıyabileceği ancak, izolatlarda aynı zamanda antibakteriyel aktivite potansiyeli de bulunabildiği ve tüm bu özelliklerin suş bazında değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Enterococcus*, su ürünü, antibakteriyel aktivite, virülans faktör, antibiyotik direnci

faecium M74) of the isolates were evaluated by using the agar drop method.

Results: All *E. faecalis* and *E. faecium* isolates were resistant to streptomycin, whereas 30 (90.9%) isolates to gentamycin and 14 (42.4%) isolates to vancomycin were found high level resistant. For erythromycin 32 (96.7%) of isolates showed intermediate level of resistancy. Other tested antibiotics, chloramphenicol and tetracycline, were found mostly susceptible, 26 (78.8%) and 30 (90.9%) isolates respectively. Multiple antibiotic resistance was also observed in isolates. In addition, *gelE* and *agg2* genes related to pathogenic function were found in some isolates and β-hemolytic activity was detected in 4 of isolates. However, there is a potential for significant antibacterial activity against test bacteria including *S. aureus* and *L. monocytogenes* in some of the isolates.

Conclusion: It is thought that *E. faecium* and *E. faecalis* isolates may carry a risk for food safety and public health due to antibiotic resistance and virulence gene transmission, but they also have potential for antimicrobial activity in isolates and all these properties should be evaluated on strain specific.

Key Words: *Enterococcus*, seafood, antibacterial activity, virulence factor, antibiotic resistance

GİRİŞ

İnsan ve hayvanların sindirim sisteminin yanında toprak, yüzey suları, bitkiler, sebzeler ve böceklerin mikroflorasında doğal olarak bulunan enterokoklar (1-3) atık sular, deniz kıyıları gibi farklı su ortamlarından, kabuklu deniz ürünlerinden, balıkların bağırsaklarından da izole edilebilmekte ve yüksek tuz içeren ortamları tolere edebilme özellikleri nedeniyle deniz kıyılarında daha uzun süre canlı kalabilmektedirler (4-6). Enterokokların, özellikle *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un

çeşitli ülkelerin geleneksel ya da endüstriyel olarak işlenmiş su ürünlerinden (balık, midye, vb.) de izole edildiği bildirilmiştir (5, 7, 8).

Enterokokların fermente gıdaların tat ve aroma gelişimindeki önemli rollerinin yanında starter, yardımcı kültür ve probiyotik olarak da kullanımının arttığı belirtilmektedir (3, 9, 10). Ancak enterokokların özellikle de *E. faecium* ve *E. faecalis*'in bazı suşlarının fırsatçı patojen olduğu bilindiğinden bu bakterilerin probiyotik olarak

kullanımı tartışma konusudur. Bazı suşlarının iyi bilinen yararlı etkilerinin yanında enterokoklar bakteriyemi, endokardit, üriner sistemde ve diğer dokularda enfeksiyonlara neden olan hastane kaynaklı patojen olarak da dikkat çekmektedir. Enterokokların hastanelerde önem kazanmasının bir diğer nedeni de antibiyotiklere artan oranda direnç göstermeleridir. Antibiyotik dirençliliği, enterokokların hastane ortamında canlılığını sürdürmesine ve dirençli suşların yayılmasına neden olmaktadır.

Hastanelerin yanında hayvanlara tedavi amaçlı ya da geleneksel hayvan yetiştiriciliğinde büyümeyi desteklemek amacıyla verilen antimikrobiyal ajanlar kazanılmış direnç genlerinin diğer bir potansiyel kaynağıdır. Bu direnç genlerinin gıda zinciri yoluyla insanları etkileyebilme durumu da söz konusudur. Bununla birlikte antibiyotik direnci enterokokların virülans özelliğini açıklamaya yetmemektedir. Antibiyotiğe dirençli enterokok suşları et, süt ve su ürünlerinde ve hazır gıdalarda yaygın bulunabilmektedir. Bu sebeple gıdalarda kullanılan yardımcı ya da starter enterokok kültürlerinin suş spesifikliği göz önüne alınarak kazanılmış antibiyotik dirençliliği yönünden güvenli olup olmadığının kontrol edilmesinin gereği üzerinde durulmaktadır (1, 3, 5, 11, 12). Çeşitli akuatik ortamlardaki bakterilerin çoklu antibiyotik direnç özelliklerinin yaygınlaşması ile bu bakterilerin insanlarda yaptığı enfeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlar oluşturacağı düşünülmektedir (5).

Enterokokların patojenitesi antibiyotiklere olan dirençlerinin yanında virülans faktörleri ile de ilişkilidir. Virülans faktörü, mikroorganizmaların hastalık oluşturabilme yeteneğini arttıran efektör moleküllerdir. Sitolizin, agregasyon materyalleri, jelatinaz, ekstraselüler yüzey proteini bunlara tipik örneklerdir (3).

İnsan-gıda zincirinde yer alan enterokoklar, konjugatif antibiyotiğe direnç transpozonlarını ya da plazmitlerini taşıyabilmekte ve antibiyotiğe direnç özelliği, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria*

monocytogenes gibi gıda kaynaklı patojenlere ya da gıda ortamında yaygın bulunabilen bakterilere transfer olabilmektedir. Tartışmalar, patojenik enterokokların gıdalar aracılığıyla taşınıp taşınmadığı yönünde yoğunlaşmıştır. Bu yüzden, gıdalardan izole edilen enterokokların diğer potansiyel virülans faktörleri yönüyle de incelenmesi gerekmektedir (1).

Enterokoklar ayrıca ürettikleri bakteriyosinler (enterosin) aracılığıyla geleneksel kimyasal koruyuculara alternatif olarak et ürünlerinde patojenlerin kontrolü için kullanılabilir (10).

Literatürde gıda ve klinik kaynaklı enterokok izolatlarının antibiyotik direnç özellikleri ve virülans gen taşıma durumlarına ilişkin yapılmış birçok çalışma olmasına karşın (1, 3, 10, 13-18) su ürünleri kaynaklı enterokok izolatlarının virülans gen taşıma ve antibiyotik direnç özellikleri yönüyle dağılımına ilişkin çok az bilgi bulunmaktadır (5, 6, 19).

Bu çalışmada çığ balık (sardalye, istavrit, barbun ve hamsi) örneklerinden izole edilen *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarının antibiyotik dirençlilik özellikleri ve çeşitli virülans genleri taşıma durumları yönüyle gıda güvenliğine uygunluğu değerlendirilmiş ve ayrıca izolatların antimikrobiyal aktivite potansiyelleri incelenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenen bir proje (proje no: 2150374) kapsamında Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarları'nda Eylül 2017-Nisan 2018 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Su ürünü örneklerinden enterokokların izolasyonu

Bu çalışmada sardalye, istavrit, barbun ve hamsi örneklerinden aseptik koşullarda 10'ar g tartılıp 90 mL

steril serum fizyolojik eklenerek Stomacher yardımıyla 1 dk süreyle homojenize edilmiş, oluşturulan ileri dilüsyonlardan Kanamycin Aesculine Azide (KAA) agar besiyeri yüzeyine 0,1 mL miktarda aktarılp Drigalski özesi yardımıyla yayılarak 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda üreyen tipik kolonilerden her örnek için seçilen 3-5 adet koloni BHI (Brain Hearth Infusion) agar besiyeri kullanılarak saflaştırılmış ve ileri analizler için %30'luk gliserol içinde -20°C'de depolanmıştır (20).

Enterokok izolatlarının cins ve tür düzeyinde tanımlanması

Elde edilen saf kültürlerle, enterokokların cins düzeyinde doğrulama testlerinden Gram boyama, katalaz testi, eskulin hidrolizi, pH 9,6 ve %40'luk safra tuzu ortamında üreme, 10°C ve 45°C'de üreme testleri ve ayrıca koyun kanlı agarda hemoliz testi uygulanmış (21, 22) ve tüm testlerde enterokoklar için tipik reaksiyonu veren izolatlar API 20 strep (Bio-Merieux, Fransa) biyokimyasal test kitleri ile tür düzeyinde tanımlanmıştır.

İzolatların antibiyotik direnç özelliklerinin araştırılması

İzolatların, kazanılmış direnç geliştirdikleri antibiyotiklerden eritromisin (10 µg), gentamisin (10 µg), streptomisin (10 µg), vankomisin (30 µg), kloramfenikol (30 µg) ve tetrasikline (30 µg) karşı dirençlilik özellikleri Müller Hinton agar besiyeri kullanılarak agar disk difüzyon yöntemi ile fenotipik olarak belirlenmiştir (14, 23-25). İzolatlara ait zon çapları Charteris et al., NCCLS (2006) ve Savaşan ve ark. (2008) 'da yer alan sınır değerleri temel alınarak dirençlilik ya da duyarlılık yönüyle değerlendirilmiştir.

İzolatların virülans gen taşıma potansiyellerinin araştırılması

Elde edilen enterokok izolatlarının virülans genlerini (*agg2*, *gelE*, *cylM*, *cylB*, *cylA*) taşıma potansiyelleri Reviriego et al. (2005) tarafından uygulanan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

protokolü kullanılarak belirlenmiştir (13, 14). Kullanılan primerler ve uygulanan PZR protokolleri Tablo 1-3'te verilmiştir. Çalışmada test edilen virülans genleri taşıyan *E. faecalis* NCIMB 700584 referans suşu, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

İzolatların bakteriyel genomik DNA'ları, DNA izolasyon ve saflaştırma kiti (GeneJET Genomic DNA Purification Kit (K0721, Thermo Scientific)) kullanılarak elde edilmiştir.

İzolatların antimikrobiyal aktivite potansiyellerinin belirlenmesi

İzolatların gıda ve su ürünü kaynaklı patojen ve bozulma etmeni *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *L. innocua* ATCC 33090, *E. faecalis* NCIMB 700584, *E. faecium* M74 referans bakteri suşlarına karşı gösterdikleri antibakteriyel aktivite potansiyelleri, agar damlatma yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir (28-33).

BULGULAR

Çalışma kapsamında analiz edilen su ürünü örneklerinden toplam 33 adet *E. faecalis* (n = 27) ve *E. faecium* (n = 6) izolatı tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bu izolatların antibiyotik direnç ve virülans gen taşıma durumlarına ilişkin veriler Tablo 4'de gösterilmektedir.

İzolatların antibiyotik direnç durumları değerlendirildiğinde test edilen tüm izolatların streptomisine dirençli olduğu, bunun yanında bir adet izolatta yüksek eritromisin direnci, 32 adet izolatta (%96,7) ise orta düzeyde eritromisin direnci tespit edilmiştir. Vankomisin direnci 14 adet izolatta (%42,4) yüksek düzeyde, 15 adet izolatta (%45,5) ise orta düzeyde belirlenmiştir. İzolatların 30 (%90,9)'unda gentamisin direnci, bir adet izolatta yüksek seviye tetrasiklin direnci, altı adet izolatta (%18,2) ise ara seviye tetrasiklin direnci tespit edilmiştir. İzolatların kloramfenikol antibiyotiğine genel olarak duyarlılık gösterdiği belirlenmiş olup, bu antibiyotiğe karşı bir adet izolatta yüksek seviye iki adet izolatta ise (%6,1) ara seviyede direnç gözlemlenmiştir.

Tablo 1. İzolatlara uygulanan polimeraz zincir reaksiyonlarında (PZR) kullanılan primerler

Gen adı	Primer Dizisi	PZR ürün boyutu (bç)
<i>agg2</i>	F-5' GTT GTT TTA GCA ATG GGG TAT	1210
	R-5' TCC TGT CAC TCC TCT TCT CAG	
<i>gelE</i>	F-5' ACC CCG TAT CAT TGG TTT	419
	R-5' ACG CAT TGC TTT TCC ATC	
<i>cylA</i>	F-5' AAT CCT ATC GGT TAC TGC TTA	517
	R-5' AGC ATC ACA ACC ATC CTA AC	
<i>cylB</i>	F-5' TGG AAG CAT TAC TTC CAG CT	843
	R-5' AAC TGC AAC CTC AAG ATT GG	
<i>cylM</i>	F-5' TGC TTC TCC ACT GTG ACC T	742
	R-5' ATC TAG TAA ATG TTA AGA AAT ACA	

Tablo 2. Virülans (*agg2*, *gelE*, *cylA*, *cylB*, *cylM*) genlerini çoğaltmak amacı ile uygulanan PZR bileşenleri

PZR BİLEŞENLERİ	µL/TÜP	SON KONSANTRASYON
Steril bidistile H ₂ O	18.0	-
10 X Buffer	2.5	1X
MgCl ₂ (25 mM)	2.0	2 mM
dNTP (25 mM)	0.3	0.3 mM
Primer1 (10 pmol/µL)	0.5	10 mM/25 µL
Primer2 (10 pmol/µL)	0.5	10 mM/25 µL
Taq polimeraz (5 U/µL)	0.2	1 U/25 µL
DNA (150 ng/µL)	1.0	150 ng/25 µL
Toplam hacim	25.0	

Tablo 3. Virülans (*agg2*, *gelE*, *cylA*, *cylB*, *cylM*) genlerinin çoğaltılmasında uygulanan PZR programı

Program Türü	Sıcaklık (°C)	Zaman (saniye)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	95	120	-
Denatürasyon	94	30	35
Bağlanma	53-54	30	
Uzatma	72	45	
Son uzatma	72	300	-
Bekleme	10	600	-

E. faecalis ve *E. faecium* izolatları taşıdığı virülans genler yönünden değerlendirildiğinde 30 adet izolatta (%90,9) biyoaktif bileşikler hidrolize eden toksik ekstraselüler metalloendopeptidaz enziminin sentezinden sorumlu olan gelE geninin, 8 adet izolatta (%24,2) ise hücrelere tutunmada görevli agregasyon proteininin sentezinden sorumlu agg2 geninin varlığı belirlenmiştir.

Ayrıca sardalye, barbun ve hamsi kaynaklı dört adet (%14,8) *E. faecalis* izolatında da β -hemolitik aktivite tespit edilmiştir.

İzolatlar antibiyotik direnç ve virülans gen taşıma durumlarının yanında çalışmada antimikrobiyal aktivite potansiyeli yönüyle de değerlendirilmiş ve 27 adet izolatta *S. aureus* ATCC 6538 referans suşuna karşı 10-15 mm, yedi adet izolatta *L. monocytogenes* ATCC 7644 referans suşuna karşı 11-26 mm, yedi adet izolatta *L. innocua* ATCC 33090 referans suşuna karşı 11-15 mm, yedi adet izolatta *E. faecalis* NCIMB 700584 referans suşuna karşı 9-16 mm, altı adet izolatta *E. faecium* M74 suşuna karşı 11-16 mm zon çapı aralığında ve bir izolatta ise *E. coli* ATCC 35218 referans suşuna karşı 15 mm zon çapında antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir (Tablo 5).

TARTIŞMA

Çalışma kapsamında analize alınan çığ balıklardan elde edilen enterokok izolatlarının ağırlıklı olarak *E. faecalis*'den oluştuğu, bunu *E. faecium*'un takip ettiği belirlenmiştir. Farklı ülkelere ait su ürünlerinin enterokok florasının belirlenmesine yönelik çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalardan Hammad et al. (2014) tarafından yapılan tüketime hazır Japon çığ balıklarından izole edilen enterokokların dağılımına ilişkin çalışmada *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*'un izole edildiği, bunlara ilave olarak *E. faecalis*, *E. phoeniculicola*, *E. raffinosus*, *E. saccharolyticus* ve *E. gilvus* türlerinin de tanımlandığı belirtilmiştir (17). Tunus'daki su ürünlerinden elde edilen enterokokların dağılımına ilişkin yapılmış başka bir çalışmada ise *E. faecium*, *E.*

casseliflavus, *E. durans*, *E. hirae*, *E. gallinarum*, *E. faecalis* ve *E. mundtii* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir (34).

Çalışmada test edilen *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarında test edilen antibiyotiklere (streptomisin, eritromisin, gentamisin, tetrasiklin, vankomisin ve kloramfenikol) karşı orta ve/veya yüksek düzeyde direnç tespit edilmiştir. Ayrıca izolatlarda çoklu antibiyotik direnci de gözlenmiştir. Virülans genler yönüyle test edilen izolatlarda patojenlikte fonksiyonu bulunan gelE ve agg2 genine rastlanmıştır, az sayıda izolatta ise β -hemolitik aktivite tespit edilmiştir. (Tablo 4). Ben Said et al. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada Tunus bölgesinde avlanan balık ve kabuklu deniz ürünlerinden izole edilen enterokokların bazı suşlarının streptomisin, tetrasiklin, eritromisin, siprofloksasin, gentamisin ve kloramfenikol gibi antibiyotiklere direnç gösterdiği, ayrıca bazı suşların çoklu antibiyotik direnç özelliğine sahip olduğu bildirilmiştir (34). Valenzuela et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada yumuşakça, balık ve balık filetosundan oluşan pişirilmemiş su ürünlerinden izole edilen enterokokların klinik kullanımı olan çoğu antibiyotiğe duyarlı oldukları ancak nitrofurantoin, eritromisin, rifampisin ve quinupristin/dalfopristine karşı direnç tespit edildiği, izolatların hiçbirinde β -laktam ve vankomisin direnci ve hemolizin/sitolizin virülans genlerinin görülmediği ifade edilmiştir (5). Hammad et al. (2014) tarafından yapılan çalışmada ise tüketime hazır çığ balık örneklerinden izole edilen enterokok izolatlarında klindamisin, eritromisin, kanamisin, gentamisin, streptomisin ve tetrasiklin direnci tespit edildiği, ampicilin, kloramfenikol ve vankomisin direnci görülmediği, *E. faecium* izolatlarında gelE ve asa1 virülans genlerine rastlandığı belirtilmiştir (17). Migaw et al. (2014) tarafından balık iç organlarından izole edilen enterokokların karakterizasyonuna ilişkin çalışmada ise sadece bir izolatta cyla virülans geninin tespit edildiği, izolatlarda ayrıca ağırlıklı olarak tetrasiklin ve kanamisin direncinin görüldüğü bildirilmiştir (19).

Tablo 4. *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarının antibiyotik direnç ve virülans gen taşıma durumları

No	İzolat No	Tür	Kaynak	Antibiyotik direnç ve virülans gen taşıma karakteristiği*
1	1-2	<i>E. faecalis</i>	Sardalye (<i>Sardina pilchardus</i>)	SR, EI, VI, GR, gelE
2	1-3	<i>E. faecalis</i>	Sardalye (<i>Sardina pilchardus</i>)	SR, TI, ER, VR, GR, gelE
3	1-4	<i>E. faecalis</i>	Sardalye (<i>Sardina pilchardus</i>)	SR, EI, VR, GR, gelE
4	1-5	<i>E. faecalis</i>	Sardalye (<i>Sardina pilchardus</i>)	SR, EI, VI, GR, gelE
5	5-2	<i>E. faecalis</i>	Sardalye (<i>Sardina pilchardus</i>)	SR, TI, EI, VI, GR, gelE, β -hemoliz
6	5-3	<i>E. faecalis</i>	Sardalye (<i>Sardina pilchardus</i>)	SR, EI, VI, GR, gelE
7	5-4	<i>E. faecium</i>	Sardalye (<i>Sardina pilchardus</i>)	SR, EI, GR, gelE
8	2-1	<i>E. faecalis</i>	İstavrit (<i>Trachurus trachurus</i>)	SR, TI, EI, VR, GR, CR, gelE
9	2-2	<i>E. faecalis</i>	İstavrit (<i>Trachurus trachurus</i>)	SR, EI, VI, GR, CI, gelE
10	2-3	<i>E. faecalis</i>	İstavrit (<i>Trachurus trachurus</i>)	SR, EI, VR, GR, gelE
11	2-4	<i>E. faecalis</i>	İstavrit (<i>Trachurus trachurus</i>)	SR, EI, VR, GR, gelE
12	2-5	<i>E. faecalis</i>	İstavrit (<i>Trachurus trachurus</i>)	SR, EI, VR, GR, gelE
13	6-1	<i>E. faecium</i>	İstavrit (<i>Trachurus trachurus</i>)	SR, EI, VI, GR, gelE
14	6-4	<i>E. faecium</i>	İstavrit (<i>Trachurus trachurus</i>)	SR, TI, EI, VR, GR, gelE
15	6-5	<i>E. faecium</i>	İstavrit (<i>Trachurus trachurus</i>)	SR, EI, VR, GR, gelE
16	6-6	<i>E. faecalis</i>	İstavrit (<i>Trachurus trachurus</i>)	SR, EI, VI, GR, gelE, agg2
17	3-1	<i>E. faecalis</i>	Barbun (<i>Mullus barbatus</i>)	SR, EI, VI, GR, gelE
18	3-2	<i>E. faecalis</i>	Barbun (<i>Mullus barbatus</i>)	SR, EI, gelE
19	3-3	<i>E. faecalis</i>	Barbun (<i>Mullus barbatus</i>)	SR, EI, VI, GR, gelE
20	3-4	<i>E. faecium</i>	Barbun (<i>Mullus barbatus</i>)	SR, TI, EI, VR, GR, CI
21	3-5	<i>E. faecalis</i>	Barbun (<i>Mullus barbatus</i>)	SR, EI, VR, GR, gelE
22	7-1	<i>E. faecalis</i>	Barbun (<i>Mullus barbatus</i>)	SR, EI, gelE
23	7-2	<i>E. faecalis</i>	Barbun (<i>Mullus barbatus</i>)	SR, EI, gelE, β -hemoliz
24	7-3	<i>E. faecalis</i>	Barbun (<i>Mullus barbatus</i>)	SR, TR, EI, VI, GR, gelE, agg2
25	7-4	<i>E. faecalis</i>	Barbun (<i>Mullus barbatus</i>)	SR, TI, EI, VR, GR, gelE
26	4-1	<i>E. faecalis</i>	Hamsi (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	SR, EI, VR, GR, gelE
27	4-2	<i>E. faecalis</i>	Hamsi (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	SR, EI, VR, GR, gelE
28	8-1	<i>E. faecalis</i>	Hamsi (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	SR, EI, VI, GR, gelE, agg2
29	8-2	<i>E. faecalis</i>	Hamsi (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	SR, EI, VI, GR, gelE, agg2, β -hemoliz
30	8-3	<i>E. faecalis</i>	Hamsi (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	SR, EI, VR, GR, gelE, agg2, β -hemoliz
31	8-4	<i>E. faecium</i>	Hamsi (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	SR, EI, VI, GR, gelE, agg2
32	8-5	<i>E. faecalis</i>	Hamsi (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	SR, EI, VI, GR, agg2
33	8-6	<i>E. faecalis</i>	Hamsi (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	SR, EI, VI, GR, agg2

* SR; Streptomisin direnci, TR; Tetrasklin direnci, TI; Orta düzey tetrasiklin direnci, ER; Eritromisin direnci, EI; Orta düzey eritromisin direnci, VR; Vankomisin direnci, VI; Orta düzey vankomisin direnci. GR; Gentamisin direnci, CR; Kloramfenikol direnci, CI; Orta düzey kloramfenikol direnci, agg2; hücre agregasyonu, gelE; metalloendopeptidaz, cylA, cylB, cylM; sitolizin aktivasyon, transport, modifikasyonu

Tablo 5. *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarının bazı test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite zon çapları (mm)

Sıra No	İzolat No	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. monocytogenes</i>
		ATCC 6538	ATCC 6538	M74	NCIMB 700584	ATCC 33090	ATCC7644
1	1-2	12	ND*	ND	ND	ND	ND
2	1-3	10	ND	ND	ND	ND	ND
3	1-4	11	ND	ND	ND	ND	ND
4	1-5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	5-2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	5-3	13	ND	ND	ND	ND	ND
7	5-4	13	ND	ND	ND	12	ND
8	2-1	10	ND	ND	ND	15	13
9	2-2	10	ND	ND	ND	ND	ND
10	2-3	11	ND	ND	ND	ND	ND
11	2-4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
12	2-5	10	ND	ND	ND	ND	10
13	6-1	10	ND	ND	ND	ND	ND
14	6-4	12	ND	ND	ND	ND	13
15	6-5	10	ND	ND	ND	ND	ND
16	6-6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	3-1	13	ND	12	10	ND	ND
18	3-2	12	ND	ND	9	ND	ND
19	3-3	10	ND	13	ND	ND	11
20	3-4	10	ND	ND	ND	ND	ND
21	3-5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	7-1	13	ND	ND	ND	ND	ND
23	7-2	12	ND	ND	ND	12	ND
24	7-3	12	ND	16	16	16	16
25	7-4	11	ND	15	11	13	26
26	4-1	13	ND	ND	ND	ND	13
27	4-2	13	ND	11	ND	ND	ND
28	8-1	11	15	ND	ND	ND	ND
29	8-2	13	ND	13	ND	ND	ND
30	8-3	12	ND	ND	ND	ND	ND
31	8-4	12	ND	ND	13	11	ND
32	8-5	15	ND	ND	12	12	ND
33	8-6	ND	ND	ND	13	ND	ND

*ND: zon yok

Ülkemizde de insan, hayvan ve gıda kaynaklı enterokokların virülans faktörlerinin ve antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesine yönelik yapılan çeşitli çalışmalar bulunmasına karşın (24, 35-40), balık kaynaklı enterokokların antibiyotik direnç özelliklerine ilişkin sınırlı sayıda çalışma (27) bulunmuştur. Ayrıca su ürünü kaynaklı enterokokların virülans gen taşıma durumlarına ilişkin yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Genel olarak laktik asit bakterileri *Listeria spp.* gibi patojen ya da gıdalarda bozulma etmeni Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip bakteriyosinler üretmektedirler (41). Laktik asit bakteri grubu içinde yer alan enterokokların ürettikleri bakteriyosinler ise enterosin olarak isimlendirilmektedir. Enterokokların ürettiği enterosinlerin kullanımı, sucuk fermentasyonunda ve dilimlenmiş vakum paketlenmiş pişmiş et ürünlerinde *L. monocytogenes*'in gelişiminin ve laktik asit bakterileri tarafından üründe yapışkan tabaka oluşumunun önlenmesinde ek koruma yöntemi olarak yarar sağlamaktadır. Enterosinler ve bakteriyosin oluşturma özelliğindeki enterokoklar geleneksel kimyasal koruyuculara alternatif olarak et ürünlerinde patojenlerin kontrolü için kullanılabilir (3, 10). Gıda kaynaklı enterokokların antimikrobiyal etkili bakteriyosin üretme potansiyellerinin değerlendirildiği çeşitli çalışmaların yanında su ürünü kaynaklı enterokoklar tarafından üretilen bakteriyosin benzeri maddelere ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (5, 7, 14, 42, 43). Ülkemizde Katırcıoğlu ve Beyatlı (2003) tarafından yapılan bir çalışmada gökkuşığı alabalığı ve aynalı sazandan izole

edilen *Lactobacillus* suşlarının bakteriyosin benzeri madde ürettiğine ilişkin veriler olmasına karşın (44), ülkemiz sularında yetiştirilen, avlanan ve işlenerek ülkemiz piyasasında satışa sunulan su ürünlerinden izole edilen enterokokların antimikrobiyal aktivite potansiyellerine ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışma kapsamında elde edilen ilk veriler ışığında ülkemizde avlanan çığ balıklardan izole edilen *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatlarının ve dolayısıyla bu izolatların elde edildiği su ürünü örneklerinin antibiyotik direnç ve virülans gen taşıma yönünden gıda güvenliği ve halk sağlığı için risk taşıyabileceği düşünülmektedir. Ancak patojenlikte önemli olan bu özelliklerin suş bazında fenotipik (virülans genlerin patojenlikteki fonksiyonlarının belirlenmesi) olarak da değerlendirilmesi ve ayrıca antibiyotik direnç genlerinin ve minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerlerinin araştırılması gerekmektedir. Bunun yanında bu izolatların bazılarında *S. aureus* ve *L. monocytogenes*'i de kapsayan test bakterilerine karşı belirgin bir antibakteriyel aktivite potansiyeli tespit edilmiştir. Bu izolatların yapılacak ileri çalışmalarla bakteriyosin üretme potansiyellerinin değerlendirilmesi ve elde edilip saflaştırılacak bu bakteriyosin preparatlarının gıda endüstrisinde alternatif koruyucu olarak kullanımının değerlendirilebileceği ve ayrıca izolatların gıda güvenliği ile ilgili özelliklerinin (antibiyotik direnç ve virülans gen taşıma durumları vb.) ve antibakteriyel aktivite potansiyelinin suş bazında irdelenmesi gerektiği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Yazarlar proje desteği için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na teşekkür etmektedir. Bu çalışmada 2150374 numaralı TÜBİTAK projesi kapsamında yürütülen yüksek lisans tezlerinden derlenmiş verilerin bir kısmı özetlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Franz CMAP, Holzapfel WH, Stiles ME. Enterococci at the crossroads of food safety? *Int J Food Microbiol*, 1999; 47: 1-24. DOI: 10.1016/S0168-1605(99)00007-0.
2. Franz CMAP, Stiles ME, Schleifer KH, Holzapfel WH. Enterococci in foods-a conundrum for food safety. *Int J Food Microbiol*, 2003; 88: 105-22. DOI: 10.1016/S0168-1605(03)00174-0.
3. Foulquie Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol*, 2006; 106: 1-24. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.026.
4. Harwood VJ, Whitlock J, Withington V. Classification of antibiotic resistance patterns of indicator bacteria by discriminant analysis: use in predicting the source of fecal contamination in subtropical waters. *Appl Environ Microbiol*, 2000; 66 (9): 3698-704. DOI: 10.1128/AEM.66.9.3698-3704.2000.
5. Valenzuela AS, Benomar N, Abriouel H, Canamero MM, Galvez A. Isolation and identification of *Enterococcus faecium* from seafoods: Antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances. *Food Microbiol*, 2010; 27: 955-961. DOI: 10.1016/j.fm.2010.05.033.
6. Hammad AM, Shimamoto T, Shimamoto T. Genetic characterization of antibiotic resistance and virulence factors in *Enterococcus* spp. from Japanese retail ready-to-eat raw fish. *Food Microbiol*, 2014; 38: 62-6. DOI: 10.1016/j.fm.2013.08.010.
7. Pinto AL, Fernandes M, Pinto C, Albano H, Castilho F, Teixeira P, Gibbs PA. Characterization of anti-listeria bacteriocins isolated from shellfish: Potential antimicrobials to control non-fermented seafood. *Int J food Microbiol*, 2009; 129: 50-8. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.11.005.
8. Francoise L. Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiol*, 2010; 27: 698-709. DOI: 10.1016/j.fm.2010.05.016.
9. Sarantinopoulos P, Andrighetto C, Georgalaki M, Rea MC, Lombardi A, Cogan TM, Kalantzopoulos G, Tsakalidou E. Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. *Int Dairy J*, 2001; 11: 621-47. DOI: 10.1016/S0958-6946(01)00087-5.
10. Hugas M, Garriga M, Aymerich MT. Functionality of enterococci in meat products. *Int J Food Microbiol*, 2003; 88: 223-33. DOI: 10.1016/S0168-1605(03)00184-3.
11. Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int J Food Microbiol*, 2003; 88: 123-31. DOI: 10.1016/S0168-1605(03)00175-2.
12. Peters J, Mac K, Schauer HW, Klein G, Ellerbroek L. Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany. *Int J Food Microbiol*, 2003; 88: 311-314. DOI: 10.1016/S0168-1605(03)00193-4.
13. Eaton TJ, Gasson MJ. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl Environ Microbiol*, 2001; 67(4): 1628-1635. DOI: 10.1128/AEM.67.4.1628-35.2001.
14. Reviriego C, Eaton T, Martin R, Jimenez E, Fernandez L, Gasson MJ, et al. Screening of virulence determinants in *Enterococcus faecium* strains isolated from breast milk. *J Hum Lact*, 2005; 21 (2): 131-7. DOI: 10.1177/0890334405275394.
15. Aral M, Paköz NİE, Aral İ, Doğan S. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarının antibiyotik direnci. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2011; 68 (2): 85-92. DOI: 10.5505/TurkHijyen.2011.53315.
16. Oladipo IC, Sanni AI, Swarnakar S. Virulence potential of *Enterococcus gallinarum* strains isolated from selected Nigerian traditional fermented foods. *J BioSci Biotech*, 2014; 3(2): 97-104. ISSN: 1314-6246.
17. Hammad AM, Hassan HA, Shimamoto T. Prevalence, antibiotic resistance and virulence of *Enterococcus* spp. in Egyptian fresh raw milk cheese. *Food Control*, 2015; 50: 815-20. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.10.020.
18. Pieniz S, De Moura TM, Cassenego APV, Andrezza R, Frazzon APG, Camargo FAO Brandelli A. Evaluation of resistance genes and virulence factors in a food isolated *Enterococcus durans* with potential probiotic effect. *Food Control*, 2015; 51: 49-54. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.11.012.

19. Migaw S, Ghrairi T, Belguesmia Y, Choiset Y, Berjeaud JM, Chobert JM et al. Diversity of bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated from Mediterranean fish viscera. *World J Microbiol Biotechnol*, 2014; 30: 1207-17. DOI: 10.1007/s11274-013-1535-6.
20. Baixas-Nogueras S, Bover-Cid S, Veciana-Nogues MT, Vidal-Carou MC. Amino acid-decarboxylase activity in bacteria associated with Mediterranean hake spoilage. *Eur Food Res Technol*, 2003; 217: 164-167. DOI: 10.1007/s00217-003-0730-3.
21. Sinton LW, Donnison AM, Hastie CM. Faecal streptococci as faecal pollution indicators: A review. Part II: Sanitary significance, survival, and use. *New Zeal J Mar Fresh*, 1993; 27(1): 117-37. DOI: 10.1080/00288330.1993.9516549
22. Harwood VJ, Delahoya NC, Ulrich RM, Kramer MF, Whitlock JE, Garey JR, Lim DV. Molecular confirmation of *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* from clinical, faecal and environmental sources. *Lett Appl Microbiol*, 2004; 38: 476-82. DOI: doi:10.1111/j.1472-765X.2004.01518.x
23. Aslım B, Beyatlı Y. Antibiotic resistance and plasmid DNA contents of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish yogurts. *Turk J Vet Anim Sci*, 2004; 28: 257-63.
24. Çıtak S, Yucel N, Orhan S. Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish white cheese. *Int J Dairy Technol*, 2004; 57(1): 27-31. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2004.00122.x
25. Martin B, Garriga M, Hugas M, Aymerich T. Genetic diversity and safety aspects of enterococci from slightly fermented sausages. *J Appl Microbiol*, 2005; 98: 1177-90. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2005.02555.x
26. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J Food Prot*, 1998; 61 (12): 1636-1643.
27. Savaşan S, Kaya O, Kırkan Ş, Çiftci A. Balık kökenli *Enterococcus faecalis* suşlarının antibiyotik dirençlilikleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 2008; 55: 107-10.
28. Durlu-Ozkaya F, Xanthopoulos V, Tunain N, Tzanetaki EL. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese made from raw ewes' milk. *J Appl Microbiol*, 2001; 91: 861-70. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2001.01448.x
29. Aslım B, Yüksekdağ ZN, Sarıkaya E, Beyatlı Y. Determination of the bacteriocin-like substances produced by some lactic acid bacteria isolated from Turkish dairy products. *LWT- Food Sci Technol*, 2005; 38: 691-4. DOI: 10.1016/j.lwt.2004.08.001
30. Tükel Ç, Aşaroğlu MD, Şimşek Ö, Akçelik M. Isolation and partial characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* spp. *lactis* MC38. *J Food Saf*, 2007; 27: 17-29.
31. Diop MB, Dauphin RD, Tine E, Ngom A, Destain J, Thonart P. Bacteriocin producers from traditional food products. *Biotechnol Agron Soc Environ*, 2007; 11(4): 275-81.
32. Ghrairi T, Frere J, Berjeaud JM, Manai M. Purification and characterisation of bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* from Tunisian rigouta cheese. *Food Control*, 2008; 19: 162-9. DOI: 10.1016/j.foodcont.2007.03.003
33. Høier E, Janzen T, Rattray F, Sørensen K, Børsting MW, Brockmann E, Johansen E. The Production, Application and Action of Lactic Cheese Starter Cultures. In: Law BA, Tamime AY eds. *Technology of Cheesemaking*, 2nd edition, Wiley- Blackwell publication, 2010: 166-89.
34. Ben Said L, Hamdaoui M, Klibi A, Ben Slama K, Torres C, Klibi N. Diversity of species and antibiotic resistance in enterococci isolated from seafood in Tunisia. *Ann Microbiol*, 2017; 67: 135-41. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.05.091
35. Çıtak S, Yucel N, Mendi A. Antibiotic resistance of enterococcal isolates in raw milk. *J Food Process Preserv*, 2005; 29: 183-95. DOI: 10.1111/j.1745-4549.2005.00022.x
36. Hajikhani R, Beyatlı R, Aslım B. Antimicrobial activity of enterococci strains isolated from white cheese. *Int J Dairy Technol*, 2007; 60(2): 105-8. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2007.00304.x
37. Gülhan T, Aksakal A, Ekin İH, Savaşan S, Boynukara B. Virulence factors of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from humans and pets. *Turk J Vet Anim Sci*, 2006; 30: 477-82.
38. Toğay SO, Keskin AÇ, Açıık L, Temiz A. Virulence genes, antibiotic resistance and plasmid profiles of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from naturally fermented Turkish foods. *J Appl Microbiol*, 2010; 109: 1084-92. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2010.04763.x

39. Özden Tuncer B, Ay Z, Tuncer Y. Occurrence of enterocin genes, virulence factors, and antibiotic resistance in 3 bacteriocin-producer *Enterococcus faecium* strains isolated from Turkish Tulum cheese. *Turk J Biol*, 2013; 37: 443-9. DOI:10.3906/biy-1209-26
40. Özmen Toğay S, Temiz A, Çelebi A, Açık L, Yalçın SS. Investigation of potential virulence genes and antibiotic resistance characteristics of *Enterococcus faecalis* isolates from human milk and colostrum samples. *Turk J Biol*, 2014; 38: 357-64. DOI: 10.3906/biy-1311-34
41. Harris LJ, Daeschel MA, Stiles ME, Klaenhammer TR. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot*, 1989; 52(6): 384-7.
42. Chadad OB, El Bour M, Calo-Mata P, Boudabous A, Velazquez JB. Discovery of novel biopreservation agents with inhibitory effects on growth of food-borne pathogens and their application to seafood products. *Res Microbiol*, 2012; 163: 44-54. DOI: 10.1016/j.resmic.2011.08.005
43. Gomez Sala B, Munoz Atienza E, Sanchez J, Basanta A, Herranz C, Hernandez PE, et al. Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from fish, seafood and fish products. *Eur Food Res Technol*, 2015; 241: 341-56. DOI 10.1007/s00217-015-2465-3
44. Katırcıoğlu H, Beyatlı Y. Gökkuşluğu alabalığı (*O. Mykiss Richardson, 1846*) ve aynalı sazandan (*C. Carpio Linnaeus, 1758*) izole edilen laktik asit bakterilerinin genel inhibisyon ve bakteriyosin ve/veya bakteriyosin madde üretimi açısından incelenmesi. *Gıda*, 2003; 28(6): 589-94.