

Enterokokların önemli virülens faktörleri ve gıdalarda bulunuşu

Azam AZIMI MAHALLEH¹, Muammer GÖNCÜOĞLU¹

¹ Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı, Ankara

Geliş Tarihi / Received: 26.11.2014, Kabul Tarihi / Accepted: 15.12.2014

Özet: Enterokoklar, insan ve çiftlik hayvanlarının doğal bağırsak florasında, toprak, su ve gıdalarda bulunabilen Gram pozitif mikroorganizmalardır. Patogen enterokoklar, sitolizin, agregasyon faktörü, jelatinaz, hyaluronidaz gibi insan sağlığı açısından önemli birçok virülens faktöründen bir veya birkaçına sahiptir. Gıda kaynaklı ve nozokomiyal enterokok infeksiyonlarının gelişiminde; intrinsik ve kazanılmış çoklu antibiyotik direnci önemli rol teşkil etmektedir. Enterokoklar fekal yolla çiğ et ve süt başta olmak üzere taze gıdalara bulaşabilmekte, ayrıca ısıya relatif direncinden dolayı ısı işlemi görmüş gıdalarda da gıda hijyeni açısından önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik direnç, Enterokoklar, Gıda, Virülens faktörler

Important virulence factors of enterococci and presence in foods

Summary: Enterococci are ubiquitous Gram-positive bacteria that inhabit intestinal flora of healthy humans and animals, soil, surface water and food. Pathogenic enterococci have one or more of the virulence factors such as cytolysin, aggregation substance, gelatinase, hyaluronidase and etc., which are important for human health. Withal intrinsic and acquired resistance ability to multiple antibiotics, constitutes an important role in the development of nosocomial and foodborne enterococcal infections. Enterococci can be transmitted to fresh foods including raw meat and milk via fecal contamination. As they have relative resistance of heat they can survive in heat-treated foods and for this reason they are important for food hygiene.

Key words: Antibiotic resistance, *Enterococcus*, Food, Virulence factors

Giriş

Enterokoklar, insan ve çiftlik hayvanlarının doğal bağırsak florasında, toprak, su ve gıdalarda bulunabilen Gram pozitif bakteriyel etkenlerdir. İnsan bağırsağında, enterokok türleri içinde *Enterococcus faecalis* ve *E. faecium* baskın türlerdir. Bu bakteriler, sahip oldukları virülens özellikleri ile endokardit, bakteriyemi, menenjit ve neonatal infeksiyonların yanı sıra, solunum, üriner ve gastrointestinal sistem infeksiyonlarına, ayrıca intra-abdominal, yara ve yumuşak doku infeksiyonlarına da yol açmaktadırlar [27, 36]. Enterokokların virülensinde, genomda bulunan patojenite adaları ve plazmidlerde kodlanan virülens genleri rol oynamaktadır. Etkenin başlıca virülens faktörleri arasında; sitolizin, agregasyon faktörü (AF), jelatinaz (GeLE), hyaluronidaz (HYL), ekstraselüler süperoksit, enterokok yüzey proteini (ESP), lipoteikoik asit (LTA), enterokokların kollagenin adhesiv matriks molekül adezyonunu tanıyan mikrobiyal yüzey bileşeni (MSCRAMM), kapsül ve hücre duvarı polisakaritler, seks fero-

monlar, biyofilm, *Enterococcus faecalis* antijen A proteini (EfaA Proteini) ve antibiyotik direnç yer almaktadır [8].

Enterokokların Virülens Faktörleri

Gıdalardan ve klinik izolatlardan elde edilen sonuçlara göre farklı enterokoklarda farklı virülens faktörlerin bulunabildiği bildirilmektedir. Genel olarak bakıldığında konak dokuya aderenz, invazyon, konak yangı tepkileri ve bakterinin potansiyel toksik ürünlerinin oluşmasının hastalık tablolarında temel oluşturduğu bildirilmektedir [15]. Eaton ve Gasson [6], gıdalardan izole ettikleri *E. faecalis* suşlarının % 44'ünde ve klinik *E. faecalis* izolatlarının % 56'sında sitolizin aktivitesi gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, toplam 250 gıda kaynaklı enterokok izolatının; 127'si *E. faecalis*, 77'si *E. faecium*, 21'i *E. casseliflavus*, 19'ü *E. mundtii* ve 6'sı *E. durans* olduğu bildirilmiştir. Bu izolatların % 0.8'inde GeLE, % 19'unda HYL, % 15'inde AF, % 28'inde ESP, % 2'sinde sitolizin ve % 22'sinde EfaA proteininin olduğu saptanmıştır [34].

Sitolizin: Çeşitli enterokok izolatlarında bulunabilen, insan, at ve tavşan eritrositlerine karşı litik aktivite gösteren bir sitotoksik proteindir. Sitolizin eritrositler dışında, polimorfonükleer lökositler (PMNL), makrofajlar ve Gram pozitif mikroorganizmalara karşı da litik aktivite gösterebilmektedir. Bununla beraber toksinin; koyun eritrositlerine ve Gram negatif bakterilere karşı inaktif olduğu ortaya konmuştur. Sitolizin'in aynı zamanda bir bakteriyosin olduğu ve bakteriyosininde bütün Gram pozitif mikroorganizmalar için bakterisidal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Sitolizin kodlayan gen bölgesi, plazmid üzerinde ya da bakteriyel kromozoma entegre olarak bulunabilmektedir. Sitolizin operonu *cylR1*, *cylR2*, *cylL_P*, *cylL_S*, *cylM*, *cylB*, *cylA*, ve *cylI* olarak tanımlanan sekiz gen içermektedir [5, 13, 38].

Agregasyon Faktörü (AF): Agregasyon faktörü, plazmidlerdeki *asal* geni tarafından kodlanan, bakteri yüzeyinde yer alan, protein yapıda bir adezindir [13]. AF, enterokok hücreleri arasında plazmid transferini kolaylaştırmaktadır. Aynı zamanda konjugasyon sırasında adezyonu arttırma, hücre-hücre temasını düzenleme, hücre dışı matriks proteinlerin adezyonla konak hücreye yapışma ve hücre yüzey hidrofobitesini arttırma gibi özellikleri ile virülense katkıda bulunmaktadır [2, 23, 38]. AF, enterokoklara; nötrofiller, makrofajlar, bağırsak ve böbrek epitel hücreleri ve kalp kapaklarına bağlanma ve bu sayede endokardit ve üriner sistem infeksiyonu oluşturma yeteneğini sağlamaktadır [19].

Jelatinaz (GelE): Enterokoklar tarafından üretilen jelatinaz; jelatin, kollajen, fibrinojen, kazein, hemogloblin ve insülini hidrolize edebilen, matriks metallo proteinaz (MMP) ailesinin ekstra selüler çinko içeren bir üyesidir [2, 38]. Jelatinaz kodlayan *gelE* geni kromozom üzerinde yer almaktadır. Jelatinaz ve serin proteaz, biyofilm oluşumu ve konak dokuların yıkımlanması ile patogeneizde rol oynamaktadır [8].

Hyaluronidaz (HYL): Hyaluronidaz, jelatinaz ve serin proteaz hidrolitik enzimleri içerisinde yer almaktadır [8]. Hyaluronidaz enzimi, *hyl* geninde kodlanmaktadır [35]. Hyaluronidaz, hyaluronik asidi tahrip ederek doku hasarına yol açan bir enzimdir. Bağ dokudaki mukopolisakkaritlerin değişimlerine sebep olarak bakterinin vücut içerisinde yayılmasını sağlamaktadır [8].

Ekstraselüler süperoksit: Süperoksit anyon, yüksek oranda bir reaktif oksijen radikalidir. İnflamatuar hastalıklarda hücre ve doku hasarına neden olmaktadır. Yağlar, proteinler ve nükleik asitler gibi biyolojik bileşiklerde yıkıcı etkiye sahip olmaktadır. Nötrofil ve diğer fagositik hücrelerde süperoksit üretimi mikroorganizmaların inhibisyonu için gereklidir ve yangıda doku hasarına yol açmaktadır [17]. Enterokoklar katalaz negatif olmalarına rağmen hidrojen peroksidin indirgenmesi için nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) peroksidazı eksprese etmektedirler. Aynı zamanda süperoksidi hidrojen peroksida dönüştürmek için, süperoksit dismutaz enzimine sahiptirler. Bu enzimler makrofajlar tarafından fagositoza maruz kalan enterokokların hayatta kalabilme kabiliyetlerini arttırmaktadır. NADH oksidazı kodlayan gen, *E. faecalis* genomunda bulunmaktadır [15].

Enterokokal yüzey proteini (ESP): İlk kez bir gentamisin dirençli *E. faecalis* MMH594 suşundan izole edilmiştir. Yüksek moleküler ağırlığa sahip ESP, 153 kb büyüklüğündeki bir patojenite adasında yer alan *esp* geninde kodlanmaktadır. Bu gen konjugasyonla enterokok izolatları arasında aktarılabilmektedir [26, 32]. ESP, N-terminal ucu ile hücre duvarına bağlanarak, bakterinin immün cevaptan kaçışını kolaylaştırmaktadır. ESP'nin, üriner sistem infeksiyonlarında bir kolonizasyon faktör gibi *E. faecalis*'in mesane epiteline yapışmasını sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca biyofilm oluşumunu ve bakterinin bazı antibiyotiklere direnç göstermesini sağlamaktadır [35].

Lipoteikoik asit (LTA): LTA, poligliserol fosfat ve fosfodiestere bağlı, glikolipid içeren bir amfiptik moleküldür. Hücre duvarında olan LTA, enterokokların D grubu antijenini oluşturmaktadır [15]. Bu molekülün lipit parçası; trombosit, eritrosit, lenfosit, PMNL ve epitel hücresi gibi pek çok ökaryotik hücreye bağlanabilmektedir [17]. Lipoteikoik asit gibi yüzey molekülleri; Gram pozitif bakterilerde otolitik faaliyetleri düzenlemek gibi çeşitli işlevler yapmaktadır [7]. *E. faecalis* suşlarında adezyon özelliği gösteren LTA'nın; donör hücre tarafından üretilen agregasyon faktörü için, alıcı hücrede reseptör olarak fonksiyon gördüğü bildirilmiştir [1]. Bu yüzden plazmid transferi ve agregat oluşumunu kolaylaştırarak *E. faecalis*'in virülensine katkıda bulunduğu düşünülmektedir [15]. Yapılan bir çalış-

mada LTA'nın, biyofilm oluşumu ve antimikrobiyal peptidlere karşı direnç gelişimine sebep olduğu tespit edilmiştir [7].

Enterokokların kollajenin adhesiv matriks molekül adezyonunu tanıyan mikrobiyal yüzey bileşeni (MSCRAMM; Microbial surface component recognizing adhesive matrix molecule adhesin of collagen from enterococci): Yapısal ve fonksiyonel olarak *Staphylococcus aureus*'un kollajen bağlayan Cna proteinine benzer, özelliklere sahip bir adezindir. *E. faecalis*'lerde kollajen bağlayıcı adezin olarak tespit edilen Ace; enterokokal infeksiyonlarda, özellikle *E. faecalis* endokarditlerinde yaygın olarak eksprese edilmektedir [38]. MSCRAMM; *ebpAfm*, *ebpBfm*, *ebpCfm*, *scm*, *fms* genleri tarafından kodlanmaktadır [30].

Kapsül ve hücre duvarı polisakkaritleri: Klinik *E. faecalis* izolatlarında yaygın olarak üretilen kapsül polisakkaritini kodlayan bir operon bulunmaktadır. Bunun dışında hem *E. faecalis* hem de *E. faecium* izolatlarında ikinci bir kapsül polisakkariti daha tanımlanmıştır. Her iki polisakkaride karşı oluşan antikolar, enterokok infeksiyonlarının önlenmesinde etkili olmaktadır. Enterokoklarda hücre duvarı polisakkaritler; gliserol fosfat, glikoz ve galaktoz komponentlerinden oluşmaktadır. Antikolar için hedef olan bu yapılar, immünite için hedef rolü oynamaktadırlar. Bu sebeple aşı oluşturmadaki önemleri araştırılmaktadır [33]. Bu polisakkaritler, *epa* gen kümesinde bulunan *orfde4* ve *orfde6* genler tarafından kodlanmaktadır [39].

Seks feromonlar: Seks feromonlar; *cpd*, *cob*, *ccf*, *cad* genlerinde kodlanan, 7-8 amino asit uzunluğunda, küçük ve hidrofobik peptitlerdir. *E. faecalis*'te sinyal peptitleri olarak fonksiyon görmektedirler. Seks feromon sistemi ile suşlar arasında konjugatif plazmidlerin transferi birkaç kat artırılmaktadır [4, 6]. *E. faecalis* suşları, kültür ortamında farklı seks feromonlar salgılamaktadır. Alıcı enterokok tarafından üretilen seks feromon, verici hücrede AF üretimini sağlamaktadır. Böylece alıcı ve verici hücre arasında sıkı temas sağlanır ve konjugatif plazmidin geçişi kolaylaşır [6, 17, 24]. Ayrıca antibiyotik direnci ve sitolizin gibi virülens faktörleri seks feromon sistemi ile *E. faecalis* suşları arasında yayılabilmektedir [17]. Bazı seks feromonlar, nötrofiller için kemotaktiktir, süper oksit üretimini ve

lizozomal enzim sekresyonunu indükler ve bu sayede doku hasarı oluşturur [28].

Biyofilm: Enterokokların oluşturduğu biyofilmler; insan vücudunda endokardit ve üriner sistem infeksiyonlarına neden olmaktadır [8]. Glikoz, demir ve CO₂'nin varlığı, ozmolarite, pH ve sıcaklık gibi faktörler, farklı bakteriler tarafından üretilen biyofilmi etkilemektedirler. Karbonhidrat metabolizması (çeşitli Gram pozitif bakterilerde özellikle *E. faecalis*'de) biyofilm üretimini düzenlemektedir. Yüksek düzeyde glikoz konsantrasyonu varlığında; enterokok yüzey proteini, biyofilm oluşumunu arttırmaktadır [22]. Enterokoklar tarafından oluşan biyofilmler, kurutma, temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerine ve deterjanlara dayanıklıdırlar. Gıda endüstrisinde ıslak yüzeyler; biyofilm oluşturan bakterilerin tutunma ve kolonizasyonunu desteklemektedir. Biyofilmler gıda sanayisinde kontaminasyona neden olarak gıda hijyeni ve halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Ayrıca enterokokal yüzey proteini, enterokokların gıda ile temas ettikleri yüzeylerde biyofilm oluşumunu arttırmaktadır [25, 29].

Enterococcus faecalis antijen A proteini (EfaA Proteini): İlk olarak insanlarda endokardite neden olan *E. faecalis* izolatlarında tanımlanan EfaA proteini, *efaA* geninde kodlanmaktadır [21]. *E. faecalis* suşlarında EfaA, manganez transport sistemi için bağlayıcı protein reseptörüdür. EfaA'nın, manganezden fakir olan ortamda fazla miktarda eksprese edildiği ve endokarditlerde adezin olarak fonksiyon gördüğü bildirilmiştir. Ayrıca klinik örneklerden, hastane ortamından, süt, peynir ve et gibi gıdalardan izole edilen *E. faecalis* suşlarında da EfaA'nın bulunduğu gösterilmiştir [6, 20].

Antibiyotik direnç: Enterokoklarda antibiyotiklere direnç intrinsik (doğal-kromozomal) ve kazanılmış direnç olarak ortaya çıkmaktadır [31]. İntrinsik direnç; enterokok türlerinde kromozomal direnç genleriyle ilişkilidir. Bu direnç bakterilerin tür veya cinslerine bağlı bir özelliktir. Antibiyotiklere karşı kazanılmış direnç gelişimi, iki yolla oluşmaktadır. Bunlar; (i) DNA mutasyonları ve direnç genlerini içeren transpozon veya plazmidlerin kazanılması ve (ii) antibiyotik tedavilerinde seçilen baskın antibiyotik kullanımına bağlı olarak yeni bir DNA segmentinin konjugasyon, transdüksiyon veya transformasyon mekanizmalarıyla genom transferidir [14, 18].

Enterokokların Gıdalarda Bulunuşu

Et ve et ürünlerinde enterokokların varlığı:

Enterokoklar olumsuz çevre koşullarına ve ısıya dirençli oldukları için, gıda güvenliği ve kalitesinin indeksi olarak düşünülmektedir. Hayvanların gastrointestinal sisteminde enterokokların varlığı kesim sırasında etin kontamine olmasına yol açabilmektedir. Çiğ et ve ürünleri üzerinde yapılan çalışmalarda, sığıır ve domuz etlerinden *E. faecalis* ve *E. faecium*'un baskın tür olarak izole edildiği bildirilmiştir. Enterokoklar pH, tuz ve ısıya dirençli oldukları için pişmiş ve işlem görmüş etlerde bozulmaya neden olabilmektedir [9, 10, 11]. Yapılan bir çalışmada, toplam 75 et ürünleri kaynaklı enterokok izolatının; 41'i *E. faecalis*, 25'i *E. faecium*, 6'sı *E. casseliflavus*, 2'si *E. mundtii* ve 1'i *E. durans* olduğu bildirilmiştir [34]. Ankara'da yapılan bir çalışmada tavuk mezbahalarından toplanan 106 tavuk boyun derisi örneğinde enterokokların varlığı incelenmiştir. İncelenen örneklerin 83'ünde (% 78) *Enterococcus* spp. izole edilmiştir. *Enterococcus* pozitif izolatların % 48'i *E. faecium*, % 23'ü *E. durans*, % 19'u *E. faecalis*, % 6'sı *E. gallinarum*, % 1'i *E. hirae*, % 1'i *E. mundtii* ve % 1'i *E. casseliflavus* olarak tanımlanmıştır [16].

Çeşitli fermente et ürünlerinde birçok bakteriyosin üreten enterokok izole edilmiştir. Fermente et ürünlerinde *E. faecium* suşu starter kültür olarak ya da suşun ürettiği enterosin bakteriyosin olarak kullanılmaktadır [9]. Enterokok suşları etin fermantasyonunda kısmen rekabetçi olup *Listeria* spp. üremesini inhibe edebilmektedir. Vignolo ve ark. [37], *E. faecium* CRL35'in oluşturduğu enterosin CRL35'in *L. monocytogenes* ve *L. innocua* üzerine inhibitör etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Süt ve süt ürünlerinde enterokokların varlığı: Süt ve süt ürünlerinde enterokokların prevalansı, süt üretim ve işlem esnasında hijyenik olmayan koşulların bir göstergesi olarak kabul edilmiştir [11]. Manchego, Mozzarella, Kefalotyri, Picante de Beira Baixa, Serra, Cebreiro, Comte, Domiati ve kaşar gibi tam olgunlaşmış peynirlerde enterokok türlerinin baskın olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte enterokokların; proteoliz, sonucu oluşan diasetil ve diğer uçucu bileşiklerin üretimiyle peynirlerde, olgunlaşma ve aroma gelişimine de katkıda buldukları bildirilmiştir [9]. Ankara'da 2000-2001 yıllar arasında yapılan bir çalışmada, çeşitli süt

işletmelerinden toplanan 78 çiğ süt örneğinde 177 enterokok izole edilmiştir. Bu izolatların % 54.2'si *E. faecalis* % 29'u *E. faecium*, % 6.2'si *E. durans*, % 5'i *E. hirae*, % 3'ü *E. gallinarum*, % 2.2'si *E. mundtii* ve % 0.5'i *E. raffinosus* olarak bildirilmiştir [3]. Yapılan başka bir çalışmada, toplam 100 süt ürünleri kaynaklı enterokok izolatının; 56'sı *E. faecalis*, 30'u *E. faecium*, 12'si *E. casseliflavus*, 1'i *E. mundtii* ve 1'i *E. durans* olduğu bildirilmiştir [34].

Enterokokların geniş pH aralığında [4,5-9,6] üreyebilmeleri, yüksek tuz konsantrasyonlarına (% 6,5) dayanıklı olmaları ve yüksek enzimatik aktiviteleri nedeniyle süt ürünleri teknolojisinde starter veya ek starter olarak kullanılabilirleri bildirilmektedir. Ancak starter kültür olarak kullanılacak enterokok türlerinin belirlenmesinde; suşun apatojen olması yanında, antibiyotiklere dirençliliğinin olmaması gerekliliği vurgulanmaktadır. Bu kapsamda Cheddar, Manchego, Feta ve Beyaz peynir gibi çeşitli peynirlerin üretiminde mevcut starter kültürlerin yanında apatojen enterokok suşlarının da kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır [12]. Peynir starter kültürleri ile birlikte enterokokların antibakteriyel maddeler (enterosin) oluşturmaları, ürünün hijyenik kalitesi için de avantaj olarak görülmektedir. Enterosinlerin *Listeria* spp. ve *Clostridium* spp. gibi gıda kaynaklı patojenlere karşı inhibitör etkisi oldukları bildirilmiştir [9].

Sebze, zeytin ve sularda enterokokların varlığı: Vankomisin dirençli enterokoklar kontamine sular ile sulanmış bitkiler, atık sular ve dışkıları gibi çeşitli kaynaklardan çevresel kontaminasyon yoluyla bitkisel gıdalara da bulaşabilmektedir. İçme sularının enterokoklar tarafından kontamine olması nozokomiyal infeksiyonlara neden olmaktadır. Ayrıca enterokoklar sebze, zeytin ve bitkilerden de izole edilebilmektedir. Özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium* türleri fermente yeşil zeytinlerde izole edilmiştir [9, 11].

Sonuç

Enterokoklar fırsatçı patojenlerdir ve genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış ya da ciddi hastalığı olan insanlarda infeksiyonlara neden olabilmektedirler. Enterokokların patojenite özelliklerinde; vankomisin gibi bazı antibiyotiklere direnç ve sahip oldukları çeşitli virülens faktörlerin önemli

rolü olduğu belirtilmektedir. Enterokoklar insan ve çiftlik hayvanlarının doğal bağırsak florasında bulunmaları, klinik infeksiyonlarda etkili olmaları ve antibiyotiklere karşı gösterdikleri direnç nedeniyle gıda kaynaklı patojenler olarak görülebilmektedirler. Bu grup bakteriler diğer bakterilerin yıkımlandığı koşullarda canlılıklarını devam ettirebildikleri için gıda hijyeni açısından önem arz etmektedirler. Gıdalardan ve klinik vakalardan elde edilen izolatların başta vankomisin olmak üzere antibiyotiklere olan direnç durumlarının izlenmesi halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Bensing BA, Dunny GM, (1993). *Cloning and molecular analysis of genes affecting expression of binding substance, the recipient-encoded receptor(s) mediating mating aggregate formation in Enterococcus faecalis*. J Bacteriol. 175, 7421-7429.
2. Biavasco F, Foglia G, Paoletti C, Zandri G, Magi G, Guaglianone E, Sundsfjord A, Pruzzo C, Donelli G, Facinelli B, (2007). *VanA-Type enterococci from humans, animals, and food: species distribution, population structure, Tn1546 typing and location, and virulence determinants*. Appl Environ Microbiol. 73, 3307-3319.
3. Citak S, Yucel N, Mendi A, (2005). *Antibiotic resistance of enterococcal isolates in raw milk*. J Food Process Pres. 29, 183-195.
4. Clewell DB, (1993). *Bacterial sex pheromone-induced plasmid transfer*. Cell. 73, 9-12.
5. Cox CR, Coburn PS, Gilmore MS, (2005). *Enterococcal cytolysin: a novel two component peptide system that serves as a bacterial defense against eukaryotic and prokaryotic cells*. Curr Protein Pept Sci. 6, 77-84.
6. Eaton TJ, Gasson MJ, (2001). *Molecular screening of Enterococcus virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates*. Appl Environ Microbiol. 67, 1628-1635.
7. Fabretti F, Theilacker C, Baldassarri L, Zbigniew Kaczynski Z, Kropec A, Holst O, Huebner J, (2006). *Alanine esters of enterococcal lipoteichoic acid play a role in biofilm formation and resistance to antimicrobial peptides*. Infect Immun. 74, 4164-4171.
8. Fisher K, Phillips, C. (2009). *The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus*. Microbiology. 155, 1749-1757.
9. Foulquié Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L, (2006). *The role and application of enterococci in food and health*. Int J Food Microbiol. 106, 1-24.
10. Franz CMAP, Holzapfel WH, Stiles ME, (1999). *Enterococci at the crossroads of food safety*. Int J Food Microbiol. 47, 1-24.
11. Giraffa G, (2002). *Enterococci from foods*. FEMS Microbiol Rev. 26, 163-171.
12. Göncüoğlu M, Bilir Ormancı FS, Kasımoğlu Doğru A, (2009). *Beyaz peynir üretiminde Enterococcus faecium'un starter kültür olarak kullanılması*. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 56, 249-254.
13. Hällgren A, Claesson C, Saeedi B, Monstein HJ, Hanberger H, Nilsson LE, (2009). *Molecular detection of aggregation substance, enterococcal surface protein, and cytolysin genes and in vitro adhesion to urinary catheters of Enterococcus faecalis and E. faecium of clinical origin*. Int J Med Microbiol. 299, 323-332.
14. Jankoska G, Trajkovska-Dokic E, Panovski N, Popovska-Jovanovska K, Petrovska M, (2008). *Virulence factors and antibiotic resistance in Enterococcus faecalis isolated from urine samples*. Prilozi. 29, 57-66.
15. Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS, (1994). *Virulence of enterococci*. Clin Microbiol Rev. 7, 462-478.
16. Kasımoğlu Doğru A, Gencay YE, Ayaz ND, (2010). *Prevalence and antibiotic resistance profiles of Enterococcus species in chicken at slaughter level; absence of vanA and vanB genes in E. faecalis and E. faecium*. Res Vets Sci. 89, 153-158.
17. Kayaoglu G, Ørstavik D, (2004). *Virulence Factors of Enterococcus faecalis: Relationship to Endodontic Disease*. Crit Rev Oral Biol Med. 15, 308-320.
18. Klare I, Konstabel C, Badstübner D, Werner G, Witte W, (2003). *Occurrence and spread of antibiotic resistances in Enterococcus faecium*. Int J Food Microbiol. 88, 269-290.
19. Koch S, Hufnagel M, Theilacker C, Huebner J, (2004). *Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities*. Vaccine. 22, 822-830.
20. Low YL, Jakubovics NS, Flatman JC, Jenkinson HF, Smith AW, (2003). *Manganese-dependent regulation of the endocarditis-associated virulence factor EfaA of Enterococcus faecalis*. J Med Microbiol. 52, 113-119.
21. Lowe AM, Lambert PA, Smith AW, (1995). *Cloning of an Enterococcus faecalis endocarditis antigen: homology with adhesins from some oral streptococci*. Infect Immun. 63, 703-706.
22. Mohamed JA, Huang DB, (2007). *Biofilm formation by enterococci*. J Med Microbiol. 56, 1581-1588.
23. Mundy LM, Sahm DF, Gilmore M, (2000). *Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance*. Clin Microbiol Rev. 13, 513-522.
24. Murray BE, (1998). *Diversity among multidrug-resistant enterococci*. Emerg Infect Dis. 4, 37-47.
25. Necidová L, Janštová B, Karpíšková S, Cupáková ŠM, Dušková M, Karpíšková R, (2009). *Importance of Enterococcus spp. for Forming a Biofilm*. Czech J Food Sci. 27, S354-S356.
26. Oancea C, Klare I, Witte W, Werner G, (2004). *Conjugative transfer of the virulence gene, esp, among isolates of Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis*. J Antimicrob Chemother. 54, 232-235.
27. Petsaris O, Miszczak F, Gicquel Bruneau M, Perrin Guyomard A, Humbert F, Sanders P, Leclercq R, (2005). *Combined antimicrobial resistance in Enterococcus fae-*

- cium* isolated from chickens. Appl Environ Microbiol. 71, 2796-2799.
28. Sannomiya P, Craig RA, Clewell DB, Suzuki A, Fujino M, Till GO, Marasco WA, (1990). Characterization of a class of nonformylated *Enterococcus faecalis*-derived neutrophil chemotactic peptides: the sex pheromones. Proc Natl Acad Sci USA. 87, 66-70.
 29. Shi X, Zhu X, (2009). Biofilm formation and food safety in food industries. Trends Food Sci Technol. 20, 407-413.
 30. Sillanpää J, Prakash VP, Nallapareddy SR, Murray BE, (2009). Distribution of genes encoding MSCRAMMs and pili in clinical and natural populations of *Enterococcus faecium*. J Clin Microbiol. 47, 896-901.
 31. Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A, (2008). Enterococcal infections & antimicrobial resistance. Indian J Med Res. 128, 111-121.
 32. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Gilmore MS, Shankar N, (2004). Enterococcal surface protein, Esp, Enhances Biofilm Formation by *Enterococcus faecalis*. Infect Immun. 72, 6032-6039.
 33. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N, (2003). Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. Cell Mol Life Sci. 60, 2622-2636.
 34. Trivedi K, Cupakova S, Karpiskova R, (2011). Virulence factors and antibiotic resistance in enterococci isolated from food-stuffs. Veterinari Medicina, 56, 352-357.
 35. Vankerckhove NV, Autgaerden TV, Vael C, Lammens C, Chapelle S, Rossi R, Jabes D, Goossens H, (2004). Development of a multiplex PCR for the detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among european hospital isolates of *Enterococcus faecium*. J Clin Microbiol. 42, 4473-4479.
 36. Vankerckhoven V, Huys G, Vancanneyt M, Snauwaert C, Swings J, Klare I, Witte W, Van Autgaerden T, Chapelle S, Lammens C, Goossens H, (2008). Genotypic diversity, antimicrobial resistance, and virulence factors of human isolates and probiotic cultures constituting two intraspecific groups of *Enterococcus faecium* isolates. Appl Environ Microbiol. 74, 4247-4255.
 37. Vignolo G, Palacios J, Farias ME, Sesma F, Schillinger U, Holzappel W, Oliver G, (2000). Combined effect of bacteriocins on the survival of various *Listeria* species in broth and meat system. Curr Microbiol. 41, 410-416.
 38. Upadhyaya GPM, Ravikumar KL, Umopathy BL, (2009). Review of virulence factors of *Enterococcus*: an emerging nosocomial pathogen. Int J Med Microbiol. 27, 301-305.
 39. Xu Y, Singh KV, Qin X, Murray BE, Weinstock GM, (2000). Analysis of a gene cluster of *Enterococcus faecalis* involved in polysaccharide biosynthesis. Infect Immun. 68, 815-823.