

GIDA KAYNAKLI ENTEROKOKLARIN GIDA VE İNSAN SAĞLIĞI YÖNÜNDEN ÖNEMİ

Sine Özmen Toğay¹, Ayhan Temiz^{2*}

1 Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
Terzioğlu Kampüsü, Çanakkale

2 Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Beytepe, Ankara

Geliş tarihi / Received: 20.07.2011

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 08.08.2011

Kabul tarihi / Accepted: 09.08.2011

Özet

Enterokoklar, proteolitik ve lipolitik aktivitelerinden dolayı pek çok fermente gıdanın duyuşal özelliklerinde rol oynayan, bazı suşları bakteriyosin üretebilen, pastörizasyon sıcaklıklarına dirençli ve farklı sıcaklıklara ve üreme koşullarına adapte olabilmeye yeteneğine sahip bakterilerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalar bu özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde enterokokların starter, yardımcı kültür ve probiyotik olarak kullanımının arttığını göstermektedir. Bazı suşlarının iyi bilinen yararlı etkilerinin yanında enterokokların bakteriyemi, endokarditis, üriner sistemde ve diğer dokularda enfeksiyonlara neden olan hastane kaynaklı patojen olduğu da bilinmektedir. Enterokokların patojenitesi virülens faktörleri ve antibiyotiklere direnç özellikleri ile ilişkilendirilmektedir. Antibiyotiklere dirençli suşlar et ürünleri, süt ürünleri ve hazır gıdalarda bulunabilmekte, hatta probiyotik olarak kullanılan suşlar dahi antibiyotiklere dirençli olabilmektedir. Bu derlemede enterokokların genel özellikleri, gıdalardan izolasyon ve tanımlama yöntemlerinin yanında gıda ve insan sağlığı açısından önemi üzerinde durulmuştur.

Anahtar kelimeler: Enterokok, izolasyon, tanımlama, probiyotik, patojenite

THE IMPORTANCE OF FOODBORNE ENTEROCOCCI IN TERMS OF FOOD AND HUMAN HEALTH

Abstract

Enterococci are bacteria which play an important role in organoleptic properties of many fermented foods through their proteolytic and lipolytic activities; some strains can produce bacteriocin, resistant to pasteurization temperatures and adapt to different growth conditions. In recent years, the reports about enterococci used as starter cultures, co-cultures or probiotics have increased considerably, because of these properties. Although the probiotic benefits of some strains are well established, enterococci are recognized as major nosocomial pathogens that cause bacteraemia, endocarditis, urinary tract and other infections. The pathogenicity of enterococci is related to virulence factors and antibiotic resistance. Antibiotic resistant strains have been found in meat products, dairy products, and ready-to-eat foods, and even within enterococcal strains used as probiotics. In this review, it has been emphasized the general characteristics of enterococci, their isolation and identification methods from foods and also the importance of these bacteria in terms of food and human health.

Keywords: Enterococci, isolation, identification, probiotic, pathogenicity

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ temiz@hacettepe.edu.tr ☎ (+90) 312 297 7101 📠 (+90) 312 299 2123

GİRİŞ

Enterokoklar, karbonhidratları L-laktik aside fermente edebilme özelliklerinden dolayı homofermentatif laktik asit bakterileri içinde yer alan, Gram pozitif, spor oluşturmeyen, bazı suşların pseudo-katalaz reaksiyonu göstermesine karşın genellikle katalaz negatif, oksidaz negatif, fakültatif anaerobik, *Enterococcus casseliflavus* ve *E. gallinarum* gibi bazı türleri dışında hareketsiz, kok şekilli bakterilerdir. Optimum üreme sıcaklıkları 35 °C olmakla beraber 10-45 °C sıcaklık aralığında, % 6.5 NaCl ve pH 9.6 ortamında da üreyebilmekte, 60 °C'de 30 dakikalık ısıtma işlemine dayanabilmekte ve suşların çoğu % 40 safra tuzu varlığında eskulini hidrolize edebilmektedir (1-6).

Enterokoklar ilk olarak 1899 yılında Thiercelin tarafından tanımlanmıştır (1). 1933 yılında Lancefield tarafından D grup antijene sahip olan fekal streptokoklar için serolojik bir tiplendirme geliştirilmiştir. *Streptococcus* cinsi bakteriler 1937 yılında Sherman tarafından; piyojenik streptokoklar, viridans streptokoklar, laktik streptokoklar ve enterokoklar olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. *Streptococcus* cinsi daha sonra modern sınıflandırma tekniklerinin uygulanması ve yapılan serolojik çalışmalar dikkate alınarak *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Enterococcus* olmak üzere 3 ayrı cins başlığında anılmaya başlanmıştır.

16S rRNA dizilimi dikkate alındığında enterokoklar 4 gruba ayrılmaktadır. *E. faecium*, *E. hirae*, *E. mundtii* "faecium" grubu içinde; *E. avium*, *E. raffinosus*, *E. malodoratus* ve *E. pseudoavium* "avium" grubu içinde; *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* "gallinarum" grubu içinde yer almakta; *E. columbae* ve *E. cecorum* da dördüncü grubu oluşturmaktadır. *E. faecalis*, *E. dispar*, *E. flavescens*, *E. saccharolyticus*, *E. sulfurous* ve *E. seriolocida* gibi diğer tüm enterokoklar bireysel olarak sınıflandırılmıştır (1, 4-6).

ENTEROKOKLARIN EKOLOJİSİ VE KAYNAKLARI

Enterokoklar, insan ve hayvanların sindirim sisteminin baskın florasını oluşturmakla birlikte toprak, yüzey suları, bitkiler, sebzeler ve böceklerde de bulunmaktadır. Enterokok türlerinden *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans*'ın insan dışkılarından sıklıkla izole edilmesinin yanında bu bakterilere çiftlik hayvanlarında da daha az

sıklıkta rastlandığı belirtilmektedir. *Enterococcus* cinsi içinde insan dışkısından en fazla *E. faecalis* ve *E. faecium*'un, tavuk, sığır ve domuz gibi hayvanlardan ise en fazla *E. faecium*'un izole edildiği, bunun yanında *E. faecalis* ve *E. cecorum*'un ve daha az sıklıkla da *E. gallinarum* ve *E. durans/hirae* ya da *E. avium*'a rastlandığı bildirilmektedir. *E. mundtii* ve *E. casseliflavus*'un ise tipik olarak bitki kaynaklı olduğu ifade edilmektedir (1, 4-10).

ENTEROKOKLARIN GIDALARDAN İZOLASYONU VE TANIMLANMASI

Enterokokların gıda, yem, çevresel ve klinik örneklerinden izolasyonu ve sayımı amacıyla çeşitli besiyerleri geliştirilmiştir. Brain Heart Infusion (BHI) broth/agar ya da Trypticase Soy (TS) broth/agar gibi zengin bileşimi olan besiyerlerinde enterokoklar kolayca ve çok miktarda üreyebilmektedir. Enterokoklar, MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) agar, Tryptone Glucose Extract agar, Tryptone Soy Yeast Extract agar, Plate Count agar, Rogosa agar, M17 agar, Elliker broth ve Todd-Hewit broth besiyerlerinde de kolaylıkla gelişebilmektedir. Kanamycin Esculin Azide (KAA) agar, *Enterococcus* Selective agar (SB, Slanetz and Bartley), KF *Streptococcus* agar, Citrate Azide Tween Carbonate (CATC) agar gıdalardan enterokokların izolasyon ve sayımında sıklıkla kullanılan seçici besiyerlerinden bazılarıdır. İnkübasyon sıcaklık (42-44 °C) ve sürelerinde (18-48 saat) oluşturulan farklılıklar da rekabetçi floranın üremesini baskılayarak besiyerlerinin seçiciliği üzerinde etkili olabilmektedir. Sodyum azid bu besiyerlerinde en yaygın kullanılan seçicilik ajanıdır. Bunun yanında farklı safra bileşikleri, talyum asetat, potasyum tellurit, potasyum tiyosiyanat, etil viyole, kristal viyole ve 2,3,5-trifenil tetrazolyum klorür (TTC) gibi renk maddeleri ve redoks indikatörleri ile kanamisin, gentamisin, nalidiksik asit, oksolinik asit, polimiksin ve kolitsin gibi antibiyotikler de seçicilik ajanları olarak kullanılmakta ayrıca Tween 80, karbonat, sitrat gibi yardımcı maddeler de besiyerlerinin bileşiminde yer alabilmektedir (3, 8, 9,11-14).

CATC agar, enterokokların et, et ürünleri, süt ürünleri ve diğer gıdalardan izole edilmesinde yaygın olarak kullanılan besiyerlerinden biridir.

Bu besiyerinde *E. faecium* TTC'yi formazana indirgeyerek oluşturduğu soluk kırmızı koloni rengiyle, parlak kırmızı renkte koloni oluşturan *E. faecalis*'ten ayrılabilir. Enterokokların gıda, su ve diğer örneklerden izolasyon ve sayımında kullanılan diğer bir besiyeri olan KAA agar besiyerinde de tipik koloniler eskulin hidrolizine bağlı olarak koloni etrafında oluşturulan siyah zon ile tanınmaktadır (3, 13).

Enterokokların tanımlanması ve karakterizasyonunda fenotipik, genotipik ve filogenetik tekniklere dayalı birçok yöntem kullanılmaktadır. Fenotipik tiplendirme yöntemleri arasında karbonhidrat fermentasyonu ve enzimatik aktivite profiline dayalı biyotiplendirme, sodyum dodesilsülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) yöntemiyle protein parmak izi gibi yöntemler sayılabilir (15-18). Biyotiplendirme yöntemlerinde genellikle ticari firmalara ait ticari biyokimyasal ve enzimatik test kitleri ve mikropilaka sistemi yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Bu kitler enterokok türlerini sınırlı derecede analiz edebilmektedir. Daha yüksek düzeyde bir tanımlama için daha ayrıntılı testlere gereksinim duyulmaktadır (18-20). Enterokokların tanımlanması ve tür ayrımında son yıllarda yapılan çalışmalar moleküler biyolojik tekniklerin kullanımı üzerine yoğunlaşmıştır. Bu genotiplendirme yöntemleri arasında toplam kromozomal DNA'nın endonükleaz kesim enzimi ile analizi, suşların plazmit profillerinin belirlenmesi, ribotiplendirme ve polimeraz zincir reaksiyonuna (PZR) dayalı teknikler ve nükleik asit hibridizasyon yöntemleri sayılabilir (18, 21, 22).

ENTEROKOKLARIN GIDALARDAKİ ÖNEMİ

Enterokoklar, hayvanların bağırsak florasındaki yaygınlığa bağlı olarak özellikle hayvansal gıdalar başta olmak üzere pek çok gıdada bulunabilmektedir. Bu nedenle bazı kaynaklarda *E. faecalis* ve *E. faecium*'un fekal kontaminasyon göstergesi olarak değerlendirildiği görülmektedir (5). Ancak pek çok gıdada *E. faecalis*'in yaygın bulunmasının her zaman için doğrudan fekal kontaminasyon göstergesi olarak değerlendirilmemesi gereğine de değinilmektedir. Enterokokların gıdalarda sadece yetersiz hijyen indikatörü olarak değil ayrıca gıdanın bir parçası olarak da göz önüne alınması gerektiği belirtilmektedir (5, 6). Bununla birlikte enterokoklar diğer pek çok laktik asit bakterileri gibi ısı işlem görmüş et

ürünlerinde yüksek sıcaklığa karşı dirençli olma özelliğinden dolayı pastörizasyon sonrası canlı kalarak ya da dilimleme ve paketleme gibi işlem basamaklarında çapraz kontaminasyona bağlı olarak üründe bozulma yapabilmektedirler. Enterokoklar ayrıca fermente gıdalarda kontaminasyon düzeyini ya da kütleme işleminin yetersizliğini de yansıtmaktadır (1, 23).

Bu bakteriler, yukarıda açıklanan istenmeyen özelliklerinin yanında sahip oldukları pek çok yararlı özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde starter, yardımcı kültür (adjunct) ve probiyotik olarak da kullanılmaktadır. Pastörizasyon sıcaklıklarına direnci ve farklı sıcaklıklara ve üreme koşullarına adapte olabilmeye yeteneği (düşük ve yüksek sıcaklık, çok yüksek ve çok düşük pH değerleri ve tuz derişimleri) enterokokların özellikle peynir ve et ürünleri gibi fermente gıdaların mikroflorasının önemli bir parçasını oluşturmasını sağlamaktadır. Fermente gıdaların organoleptik özelliklerine katılması ve bakteriyosin (enterosin) üretim yetenekleri enterokokların gıda teknolojilerinde kullanımı açısından önem taşımaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar enterokokların starter ve yardımcı kültür olarak kullanımının arttığını göstermektedir (5, 6, 24).

Genel olarak laktik asit bakterileri, *Listeria* spp. gibi patojen ya da gıdalarda bozulma etmeni Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyel aktiviteye sahip bakteriyosinler üretmektedirler (25-29). Enterokokların ürettikleri bakteriyosinler ise enterosin olarak isimlendirilmektedir. Enterokokların ürettiği enterosinlerin kullanımı, sucuk fermantasyonunda ve dilimlenmiş vakum paketli pişmiş et ürünlerinde *L. monocytogenes*'in gelişiminin ve laktik asit bakterileri tarafından üründe yapışkan tabaka oluşumunun önlenmesinde ek koruma yöntemi olarak yarar sağlamaktadır. Enterosin oluşturma özelliğindeki enterokoklar geleneksel kimyasal koruyuculara alternatif olarak et ürünlerinde patojenlerin kontrolü için kullanılabilir (6, 23).

Enterokoklar, proteolitik ve lipolitik aktiviteleri ile diasetil gibi önemli uçucu bileşikler üretebilme özellikleriyle peynirlerin olgunlaşması ve aroma gelişiminde katkı sağlamaktadır. Ayrıca bu bakteriler sucuk vb. geleneksel fermente gıdaların tat, koku ve kalite gelişiminde de önemli role sahiptirler. Enterokokların fermente et ve süt ürünlerinde

sözü edilen istenilen özelliklerine karşın bazı enterokok suşlarının tiramin ve feniletilamin gibi biyojen aminleri oluşturabildikleri de belirtilmektedir (6, 23, 30, 31).

Enterokokların yüksek tuz derişimlerinde ve düşük pH'da üreyebilme yetenekleri ve peynirlerin olgunlaşması ve aroma gelişimindeki olumlu özellikleri nedeniyle peynirlerde starter ve yardımcı kültür olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda enterokokların starter olarak kullanımının, starter olmayan diğer laktik asit bakterilerinin üremesini olumlu yönde etkilediği, proteolitik indeksi ve serbest amino grubu derişimini arttırdığı, suda çözünebilir azot fraksiyonlarını zenginleştirdiği ve tat, aroma, renk, yapı ve tüm duyuşsal özellikleri olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir. Bunlara ilaveten enterokokların peynirlerde bakteriyosin oluşturarak *L. monocytogenes* gibi patojenleri inhibe ederek de yararlı etki sağladıkları, bakteriyosin üretiminin rennet, CaCl₂ ve enterokok olmayan diğer starter kültürler tarafından desteklenerek hedef bakterinin başarılı şekilde inhibe edildiği ifade edilmektedir (4, 6, 23).

Gıda kaynaklı enterokoklara ilişkin ülkemizde yapılmış çeşitli çalışmalarda beyaz peynirden (32), tulum peynirinden (33, 34), geleneksel Türk sucuğundan (35), tavuk, sığır eti, Cheddar peyniri, beyaz peynir, krem peynir, yoğurt, sütlü tatlılar gibi gıdalardan ve karabiber ve kırmızıbiber gibi baharattan (14) enterokokların yaygın olarak izole edildiği belirtilmektedir.

ENTEROKOKLARIN PROBİYOTİK OLARAK KULLANIMI

Enterokokların bazı ülkelerde probiyotik olarak kullanımına ilişkin bilgiler bulunmaktadır (1, 4, 6). Probiyotik olarak en iyi bilinen Enterococcus suşu İsviçre'de üretilen *E. faecium* SF68'dir. Bağırsak bozukluklarının tedavisinde bu bakterinin etkinliğinin, bağırsakta kommensal olmasından ve kısa lag fazına ve jenerasyon süresine sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu bakteri suşunun *in vitro* olarak *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Enterobacter* spp.'nin üremesi üzerinde inhibitör etki gösterdiğine de değinilmektedir. Bu suşun ayrıca düşük pH'lara dirençli olduğu, safra tuzlarından etkilenmediği, bireylerin bakteriye karşı yüksek tolerans gösterdiği ve bireylerde hiç bir yan etki görülmediği de

ifade edilmektedir. Bu suşun ishal tedavisinde antibiyotik uygulamasına alternatif olarak kullanılabilmesi ve ayrıca antibiyotik kaynaklı ishalin önlenmesinde ve çocuklardaki ishalin tedavisinde klinik olarak etkili olduğu belirtilmektedir (1, 6, 36).

Probiyotikler hayvan yetiştiriciliğinde bağırsak hastalıklarının önlenmesi veya tedavisinde ya da büyümeyi teşvik edici olarak da kullanılabilir. Sindirim sistemindeki patojen bakterilerin antibiyotiklere direnç geliştirmelerinden dolayı, hayvan yetiştiriciliğinde enterokoklar ve diğer laktik asit bakterilerinin probiyotik preparatları daha bir önem kazanmaktadır. Probiyotiklerin hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotiklerin yerine kullanımı hayvansal gıdalardan antibiyotiğe dirençli patojenlerin yayılımının önlenmesi yönüyle gıda mikrobiyolojisi açısından da önemlidir (1).

ENTEROKOKLARIN SAĞLIK YÖNÜNDEN ÖNEMİ

Bazı suşlarının iyi bilinen yararlı etkilerinin yanında enterokokların en yaygın hastane kaynaklı patojenlerin arasında yer aldığı, özellikle de *E. faecium* ve *E. faecalis*'in fırsatçı patojen olduğu, bakteriyemi ve endokarditisin yanında üriner sistemde ve merkezi sinir sistemi gibi dokularda enfeksiyonlara neden olabildiği bildirilmektedir. Enterokokların patojenite mekanizmalarında vankomisin gibi bazı antibiyotiklere direnç özelliklerinin ve sahip oldukları çeşitli virülens faktörlerinin önemli rolü olduğu belirtilmektedir (6).

ENTEROKOKLARIN ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ ÖZELLİKLERİ

Enterokokların insan sağlığı açısından dikkat çekmesinin nedenlerinden biri antibiyotiklere direnç özellikleridir. Antibiyotik dirençliliği, enterokokların hastane ortamında canlılığını sürdürmesine ve dirençli suşların yayılmasına neden olmaktadır. Enterokokların antibiyotik direnci doğal ve kazanılmış direnç şeklinde sınıflandırılmaktadır. Sefalosporinler, aminoglikozitler, polimiksinler, linkomisin ve klindamisinine karşı oluşan direnç doğal direnç olarak tanımlanmaktadır. Makrolitler, tetrasiklinler, kloramfenikol, trimetoprim sulfametoksazol, rifampisin, aminoglikozitler, glikopeptitler (vankomisin ve teikoplanin vb.) ve ampisiline karşı oluşan dirence ise kazanılmış direnç denilmektedir. Ampisilin, vankomisin

ve gentamisin, çoklu antibiyotiğe dirençli enterokokların tedavisinde klinik olarak en yaygın kullanılan antibiyotiklerdir. Son yirmi yılda vankomisin yaygın kullanımı sonucu vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşlarının sayısında ve dolayısıyla da yüksek vankomisin direncine sahip hastane kaynaklı enterokokların invazyon oranında artış görülmüştür. Hastanelerin yanında hayvanlara tedavi amaçlı ya da geleneksel hayvan yetiştiriciliğinde büyümeyi desteklemek amacıyla verilen antimikrobiyel ajanlar da kazanılmış direnç genlerinin potansiyel kaynaklarından birini oluşturmaktadır. Bu direnç genleri gıda zinciri yoluyla insanları etkileyebilmektedir. VRE suşları, bütün antienterokokal ilaçlara karşı da direnç göstermekte ve bu nedenle önemli bir risk grubunu oluşturmaktadır. Antibiyotiğe dirençli enterokok (ARE) suşlarına gıdalarda yaygın olarak rastlanılmaktadır. Bu suşlar et ürünlerinde, süt ürünlerinde, hazır gıdalarda bulunabilmekte ve hatta probiyotik olarak kullanılan suşlar dahi antibiyotiklere dirençli olabilmektedir. Bu nedenle gıdalarda kullanılan yardımcı ya da starter enterokok kültürlerinin, suş spesifikliğı göz önüne alınarak kazanılmış antibiyotik dirençliliğı yönünden güvenli olup olmadığının kontrol edilmesinin gereğı üzerinde durulmaktadır (1, 5, 6, 37).

İnsan-gıda zincirinde yer alan enterokokların, konjugatif antibiyotiğe direnç transpozonlarını ya da plazmitlerini taşıdıkları ve antibiyotiğe direnç özelliğini, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* gibi gıda kaynaklı patojenlere ya da gıda ortamında yaygın bulunabilen *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* gibi bakterilere transfer edebildikleri belirtilmektedir (1). Gıda kaynaklı suşlar ile normal bağırsak florasında yer alan mikroorganizmalar arasında da gen aktarımları söz konusu olabilmektedir. Bağırsaktaki mikrobiyel flora, konjugatif plazmitler, cinsiyet feromonları ve transpozonlar aracılığıyla gen aktarımı yapabilmektedir. Sonuç olarak gıda kaynaklı bakteriler bağırsak mikroflorası mikroorganizmalarıyla gen aktarımı yönünden ardı kesilmeyen bir ilişki içinde olabilmekte ve bu da söz konusu durumu daha karmaşık hale getirmektedir (38).

Gıdalardan izole edilen enterokokların antibiyotik dirençlilik özelliklerine ilişkin yapılmış çeşitli çalışmalarda (13, 37, 39-46) yöresel peynirler, süt, çeşitli süt ürünleri, et ürünleri, sebzeler ve

starter kültürlerden izole edilen bazı enterokok suşlarının klindamisin, tetrasiklin, streptomisin, gentamisin, eritromisin, kanamisin, kloramfenikol ve vankomisin gibi antibiyotiklere dirençli olabildiğı ancak vankomisin direnç genleri olan vanA ve vanB genlerini taşımadıkları ifade edilmiştir.

ENTEROKOKLARDA VİRÜLENS FAKTÖRLERİ

Enterokokların patojenitesi antibiyotiklere olan dirençlerinin yanında virülens faktörleri ile de ilişkilendirilmektedir. Virülens faktörleri, mikroorganizmaların hastalık oluşturabilme yeteneğini arttıran efektör moleküllerdir. Sitolizin, agregasyon materyalleri, jelatinaz, hücre dışı yüzey proteini bunlara tipik örneklerdir. Sitolizin enzimi, deney hayvanı çalışmalarında *E. faecalis* suşlarının virülens faktörü olarak değerlendirilmektedir. Sitolizin, ökaryotik hücreleri lize edebilme yeteneğı ve bakterisidal etkisi olan ender lantibiyotiklerdendir. Bu lantibiyotik jelatinaz, jelatin, kollajen, hemoglobin ve diğ er biyoaktif peptitleri hidrolize eden bir hücre dışı metallo-endopeptidaz enzimidir. Gıdalardaki *E. faecalis* suşlarında jelatinaz üretimi yüksektir. Çalışmalarda genotipte jelatinaz geninin bulunmasına karşılık fenotipte bu özelliğı göstermeyen bazı suşların olduğı belirlenmiştir. Hücre dışı yüzey proteininin adhezyonda ve konakçı bağışıklık sisteminden korunmada rol oynadığı düşünölmektedir. Patojenlerin konakçı dokudaki hücre dışı matrikse tutunması enfeksiyon açısından oldukça önemlidir. *E. faecium* ve *E. faecalis*, trombospondin, laktoferrin, vitronektin gibi özel hücre dışı matriks proteinlerine bağlanabilmektedir. Agregasyon materyalleri, önemli virülens faktörlerinden olup bağırsak hücreleri mikrovilluslarının yüzeyi ile ilişki içerisindedir. Agregasyon materyalindeki Arg-Gly-Asp-Ser aminoasit motifinin ökaryotik hücreye bağlanmada rol aldığı düşünölmektedir (1, 6).

Tartışmalar, patojenik enterokokların gıdalar aracılığıyla taşınıp taşınmadığı yönünde yoğunlaşmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda gıda ve etlerde bulunan enterokokların özellikle de *E. faecium*'un klinik izolatlarına göre daha düşük patojenite potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Araştırmalarda gıdalardan izole edilen enterokokların antibiyotik direnç özelliklerinin yanında potansiyel virülens faktörleri yönüyle de incelenmesinin gerektiğı vurgulanmaktadır (1, 23, 40, 45-49).

SONUÇ

Gıdaların doğal florasında bulunmasının yanında sahip oldukları fonksiyonel özelliklerden dolayı gıda endüstrisinde önemli bir yere sahip olan enterokoklar insanlarda bakteriyemi, endokarditis, üriner sistemde ve diğer dokularda enfeksiyonlara yol açabilmekte ve taşıyabilecekleri virülens genleri ve antibiyotik dirençlilik özelliklerinden dolayı enterokokların probiyotik olarak kullanımı tartışma yaratmaktadır. Antibiyotiğe dirençli enterokok suşları gıdalarda yaygın bulunmakta ve bu özellik plazmitler aracılığı ile bakteriler arasında aktarılabilmektedir. Bu suşlar et ürünlerinde, süt ürünlerinde, hazır gıdalarda bulunabilmekte ve hatta probiyotik olarak kullanılan suşlar dahi antibiyotiklere dirençli olabilmektedir. Bu nedenle gıdalarda kullanılan yardımcı kültür, starter ve probiyotik özellikteki enterokok kültürlerinin suş spesifikliğı göz önüne alınarak antibiyotik dirençliliğı ve virülens genlerini taşıma potansiyeli yönünden güvenli olup olmadığının kontrol edilmesinin gereğı üzerinde durulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Franz CMAP, Holzapfel WH, Stiles ME. 1999. Enterococci at the crossroads of food safety? Review. *Int J Food Microbiol*, 47, 1–24.
2. Fisher K, Phillips C. 2009. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. Review. *Microbiol*, 155, 1749–1757.
3. Domig KJ, Mayer HK, Kneifel W. 2003. Methods used for the isolation, enumeration, characterization and identification of *Enterococcus* spp. 1. Media for isolation and enumeration. Review article. *Int J Food Microbiol*, 88, 147–164.
4. Franz CMAP, Stiles ME, Schleifer KH, Holzapfel WH. 2003. Enterococci in foods - a conundrum for food safety. Review article. *Int J Food Microbiol*, 88, 105–122.
5. Klein G. 2003. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and gastro-intestinal tract. Review. *Int J Food Microbiol*, 88, 123–131.

6. İşleröğlü H, Yıldırım Z, Demirpençe Y, Yıldırım M. 2008. Enterokoklar: Biyokimyasal, fizyolojik ve fonksiyonel özellikleri ile patojenitesi. Derleme makale. *Akademik Gıda*, 6(3), 16–26.
7. Foulquie Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. 2006. The role and application of enterococci in food and health. Review. *Int J Food Microbiol*, 106, 1 – 24.
8. Belgacem ZB, Abriouel H, Ben Omar N, Lucas R, Mart nez-Cañamero M, Gálvez A, Manai M. 2010. Antimicrobial activity, safety aspects, and some technological properties of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* from artisanal Tunisian fermented meat. *Food Control*, 21, 462–470.
9. Sánchez Valenzuela A, Benomar N, Abriouel H, Mart nez-Cañamero M, Gálvez A. 2010. Isolation and identification of *Enterococcus faecium* from seafoods: Antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances. *Food Microbiol*, 27, 955–961.
10. Tunail N. 1999. Microflora of the Intestine/ Biology of the *Enterococcus* spp. in; *Encyclopedia of Food Microbiology*. Robinson RK (chief ed), Academic Press, UK, pp 1365–1373.
11. Ruzauskas M, Suziedeliene E, Siugzdiniene R, Seputiene V, Povilonis J. 2010. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. spread in poultry products in Lithuania. *J Food Safety*, 30, 902–915.
12. Foulquie Moreno MR, Rea MC, Cogan TM, De Vuyst L. 2003. Applicability of a bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* as a co-culture in Cheddar cheese manufacture. *Int J Food Microbiol*, 81(1), 73–84.
13. Canzek Majhenic A, Rogelj I, Perko B. 2005. Enterococci from Tolminc cheese: Population structure, antibiotic susceptibility and incidence of virulence determinants. Short communication. *Int J Food Microbiol*, 102, 239–244.
14. Koluman A, Akan LS, Cakiroglu FP. 2009. Occurrence and antimicrobial resistance of enterococci in retail foods. *Food Control*, 20, 281–283.
15. Ghazi F, Henni DE, Benmechernene Z, Kihal M. 2009. Phenotypic and whole cell protein analysis by SDS-PAGE for identification of dominants lactic acid bacteria isolated from Algerian raw milk. *World J Dairy Food Sci*, 4 (1), 78–87.

16. Albano H, van Reenen CA, Todorov SD, Cruz D, Fraga L, Hogg T, Dicks LMT, Teixeira P. 2009. Phenotypic and genetic heterogeneity of lactic acid bacteria isolated from "Alheira", a traditional fermented sausage produced in Portugal. *Meat Sci*, 82, 389–398.
17. Pangallo D, Drahovska H, Harichova J, Karellova E, Chovanova K, Aradska J, Ferianc P, Turna J, Timko J. 2008. Evaluation of different PCR-based approaches for the identification and typing of environmental enterococci. *Anton Leeuw*, 93, 193–203.
18. Domig KJ, Mayer HK, Kneifel W. 2003. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 2. Pheno- and genotypic criteria, Review article. *J Food Microbiol*, 88, 165–188.
19. Brtkova A, Filipova M, Drahovska H, Bujdakova H. 2010. Characterization of enterococci of animal and environmental origin using phenotypic methods and comparison with PCR based methods. *Veterinarni Medicina*, 55 (3), 97–105.
20. Canzek Majhenic A. 2006. *Enterococci*: yin - yang microbes. *Mljekarstvo*, 56(1) 5-20.
21. Psoni L, Kotzamanides C, Andrighetto C, Lombardi A, Tzanetakis N, Litopoulou-Tzanetaki E. 2006. Genotypic and phenotypic heterogeneity in *Enterococcus* isolates from Batzos, a raw goat milk cheese. *Int J Food Microbiol*, 109, 109–120.
22. Scheidegger EMD, Fracalanza SAP, Teixeira LM, Cardarelli-Leite P. 2009. RFLP analysis of a PCR-amplified fragment of the 16S rRNA gene as a tool to identify *Enterococcus* strains. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 104(7), 1003-1008.
23. Hugas M, Garriga M, Aymerich MT. 2003. Functionality of enterococci in meat products. *Int J Food Microbiol*, 88, 223-233.
24. Khan H, Flint S, Yu PL. 2010. Enterocins in food preservation. *Int J Food Microbiol*, 141, 1–10.
25. Alvarez-Cisneros YM, Fernandez FJ, Wachter-Rodarte C, Aguilar MB, del Rosario Sainz Espunes T, 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.
26. Ghrairi T, Frere J, Berjeaud JM, Manai M. 2008. Purification and characterisation of bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* from Tunisian rigouta cheese. *Food Control*, 19, 162–169.
27. Cosansu S, Kuleasan H, Ayhan K, Materon L. 2007. Antimicrobial activity and protein profiles of *Pediococcus* spp. isolated from Turkish "Sucuk". *J Food Process Pres*, 31, 190–200.
28. Altuntaş EG, Ayhan K. 2009. Purification process and characterization methods of bacteriocins produced by lactic acid bacteria (LAB). TUBITAK-MAM 3rd International Congress on Food and Nutrition, 22-25 April 2009, Antalya, Turkey, p. 101
29. Coşansu S, Geornaras I, Ayhan K, Sofos JN. 2009. Control of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat turkey breast slices by bacteriocin. TUBITAK-MAM 3rd International Congress on Food and Nutrition, 22-25 April, Antalya, Turkey, p. 76.
30. Nieto-Arribas P, Seseña S, Poveda JM, Chicón R, Cabezas L, Palop L. 2011. *Enterococcus* populations in artisanal Manchego cheese: Biodiversity, technological and safety aspects. *Food Microbiol*, 28, 891-899.
31. Ayhan K, Durlu-Özkaya F. 2007. Biogenic amines in foods. In: *Metabolism and Applications of Lactic acid Bacteria*. Barbaros Özer (chef ed), Research Signpost, 37/661 (2), Kerela, India. 27p.
32. Hajikhani R, Beyatlı Y, Aslım B. 2007. Antimicrobial activity of enterococci strains isolated from white cheese. *Int J Dairy Technol*, 60(2), 105-108.
33. Gürses M, Erdogan A. 2006. Identification of lactic acid bacteria isolated from Tulum cheese during ripening period. *Int J Food Prop*, 9, 551–557.
34. Tuncer Y. 2009. Some technological properties of phenotypically identified enterococci strains isolated from Turkish tulum cheese. *Afr J Biotechnol*, 8(24), 7008-7016.
35. Sırıken B, Ozdemir M, Yavuz H, Pamuk S. 2006. The microbiological quality and residual nitrate/nitrite levels in Turkish sausage (soudjouck) produced in Afyon Province, Turkey. *Food Control*, 17, 923–928.

36. Erginkaya Z, Yurdakul NE, Karakaş A. 2007. *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*'in starter ve probiyotik kültür özellikleri. *GIDA*, 32(3), 137-142.
37. Frazzon APG, Gama BA, Hermes V, Bierhals CG, Pereira RI, Guedes AG, d'Azevedo PA, Frazzon J. 2010. Prevalence of antimicrobial resistance and molecular characterization of tetracycline resistance mediated by tet(M) and tet(L) genes in *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil. *World J Microbiol Biotechnol*, 26, 365–370.
38. von Wright A, Bruce A. 2003. Genetically modified microorganisms and their potential effects on human health and nutrition. *Trends Food Sci Tech*, 14, 264-276.
39. Bhardwaj A, Gupta H, Kapila S, Kaur G, Vij S, Malik RK. 2010. Safety assessment and evaluation of probiotic potential of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* KH 24 strain under in vitro and in vivo conditions. *Int J Food Microbiol*, 141, 156–164.
40. Franz CMAP, Muscholl-Silberhorn AB, Yousif NMK, Vancanneyt M, Swings J, Holzapfel WH. 2001. Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food. *Appl Environ Microbiol*, 67(9), 4385–4389.
41. Ogier JC, Serror P. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Enterococcus* genus. *Int J Food Microbiol*, 126, 291–301.
42. Jurkovic D, Krizkova L, Dusinsky R, Belicova A, Sojka M, Krajcovic J, Ebringer L. 2006. Identification and characterization of enterococci from bryndza cheese. *The Society for Applied Microbiology, Lett Appl Microbiol*, 42, 553–559.
43. Cariolato D, Andrighetto C, Lombardini A. 2008. Occurrence of virulence factors and antibiotic resistance in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* collected from dairy and human samples in North Italy. *Food Control*, 19, 886-892.
44. Gomes BC, Esteves CT, Palazzo ICV, Darini ALC, Felis GE, Sechi LA, Franco BDGM, De Martinis ECP. 2008. Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp. isolated from Brazilian foods. *Food Microbiol*, 25(5), 668-75.
45. Sánchez Valenzuela A, Ben Omar N, Abriouel H, López RL, Veljovic K, Cañamero MM, Milan Topisirovic KL, Gálvez A. 2009. Virulence factors, antibiotic resistance, and bacteriocins in enterococci from artisan foods of animal origin. *Food Control*, 20, 381–385.
46. Özmen Toğay S, Çelebi Keskin A, Açıık L, Temiz A. 2010. Virulence genes, antibiotic resistance and plasmid profiles of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from naturally fermented Turkish foods. *J Appl Microbiol*, 109, 1084–1092.
47. 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(4), 1628-1635.
48. Barbosa J, Gibbs PA, Teixeira P. 2010. Virulence factors among enterococci isolated from traditional fermented meat products produced in the North of Portugal. *Food Control*, 21, 651–656.
49. Carlos AR, Semedo-Lemsaddek T, Barreto-Crespo MT, Tenreiro R. 2010. Transcriptional analysis of virulence-related genes in enterococci from distinct origins. *J Appl Microbiol*, 108, 1563–1575.