

Yöresel Peynirden Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterisinin İzolasyonu ve Tanısı

Hilal İşleroğlu Zeliha Yıldırım Metin Yıldırım
Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 60240, Tokat

Özet: Bu çalışmada yöresel bir peynirden antimikrobiyal aktiviteye sahip bir bakteri izole edilmiş ve genel mikrobiyolojik analizler, karbonhidrat fermentasyon ve yağ asidi profili testleri kullanılarak karakterize edilmiş ve tanımlanmıştır. İzole edilen bakterinin Gram pozitif, kok şeklinde, hareketsiz, endospor, katalaz, hemoliz, jelatinaz, indol ve Voges Proskauer negatif, % 3,0-6,5 NaCl konsantrasyonunda, pH 4,5-9,6 ve 10-45°C'de gelişebildiği tespit edilmiştir. Yapılan karbonhidrat fermentasyonu ile yağ asidi profili testleri sonucunda bakterinin *Enterococcus faecalis* olduğu belirlenmiştir. Bu bakteri tarafından üretilen antimikrobiyal maddenin *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ve *Listeria monocytogenes*'a karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu, ancak *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus*'a karşı etkili olmadığı gözlenmiştir. Antimikrobiyal aktivitenin asitlik ve hidrojen peroksitten kaynaklanmadığı belirlenmiştir. Papainle muamele sonucu aktivitesini kaybetmesi antimikrobiyal bileşiğin protein tabiatında olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar Kelime: Antimikrobiyal madde, *Enterococcus faecalis*, tanımlama

Identification and Izolation of Lactic Acid Bacterium Having Antimicrobial Activity From Traditionally Produced Cheese

Abstract: In this study, a bacterium having antimicrobial activity was isolated from a traditionally produced cheese, and it was identified and characterized by using general microbiological analysis, carbohydrate fermentation and fatty acid profile identification systems. The isolated bacterium was Gram positive, coccus, non-motile, endospor, catalase, hemolyse, gelatinase, indol and Voges-Proskauer negative and able to grow in the presence of 3.0-6.5 % NaCl, and at pH 4.0 to 9.6 and 10-45°C. Carbohydrate fermentation and fatty acid profile identification systems showed that this bacterium was *Enterococcus faecalis*. The antimicrobial substance produced by this bacteria had an inhibitory activity against *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* and *Listeria monocytogenes*, but not to *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. Antimicrobial activity was not due to acidity and hydrogen peroxide. Antimicrobial substance is a proteinaceous nature since it lost its activity when treated with papain.

Key Words: Antimicrobial substance, *Enterococcus faecalis*, identification

1. Giriş

Laktik asit bakterileri (LAB) morfolojik, metabolik ve fizyolojik karakteristikleriyle birleşmiş Gram pozitif bakterilerinin bir grubunu oluşturmaktadır. Bu grupta yer alan bakterilerin genel tanımı; Gram pozitif, spor oluşturmayan, katalaz negatif, sitokroma sahip olmayan, aerobik olmayan ama aerotolerant, asidi tolere edebilen, kuvvetli fermentatif olup şeker fermentasyonu sırasında başlıca son ürün olarak laktik asit üreten kok veya çubuk şeklinde bakterilerdir. Laktik asit bakterileri genellikle besin içeriği bakımından zengin olan ortamlarda, örneğin süt, et ve sebzelerde bulunmaktadır. Fakat bazı üyeleri ağız, bağırsak ve vajinada da bulunmaktadır.

Günümüzde gıda ile ilişkisi bulunan Laktik asit bakterileri, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*,

Tetragenococcus, *Vagococcus* ve *Weissella* gibi cinslerin türlerini kapsamaktadır (Axelson 1993; Stiles and Holazopfel 1997).

Laktik asit bakterileri "güvenli bakteriler" olarak kabul edilirler ve koruyucu kültürlerin özelliklerini taşırlar. Gıdalarda sadece gıda kaynaklı patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmaları inhibe etmek ve/veya raf ömrünü uzatmak için kullanılan ve gıdanın duyuşal özelliklerinde değişime sebep olmayan antogonistik kültürler koruyucu kültürler denir. Laktik asit bakterilerinin antogonizması diğer mikroorganizmalarla besin öğeleri için yarışarak ya da organik asitler (asetik, propiyonik ve laktik asit gibi), hidrojen peroksit, antimikrobiyal enzimler, diasetil ve bakteriyosinler gibi bir veya daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler üretmelerinden kaynaklanmaktadır (Työppönen et al., 2003; Devlieghere et al., 2004).

Başlangıçta Streptococcus cinsi içinde yer alan enterokoklar, “fokal streptokoklar” veya “Lancefield serolojik D grubu streptokoklar” olarak bilinmekteydi. 1984 yılında DNA-DNA ve DNA-RNA hibridizasyon çalışmaları ile bunların streptokoklardan farklılığı ortaya konmuş ve buna bağlı olarak enterococcus olarak ayrı bir cins olarak kabul edilmiştir (Schleifer and Kilpper-Balz, 1984). Enterococcus cinsi içinde şu ana kadar 32 tür bulunmaktadır. Bunlardan *E. faecalis* and *E. faecium* en önemli iki tür olup insanların gastrointestinal sisteminin doğal florasında bulunmaktadır. Enterokoklar fekal kaynaklı ve kötü çevre koşullarına karşı dayanıklı olmalarından dolayı genellikle gıda, bitki, su ve topraktan izole edilmektedirler (Giraffa, 2002). Diğer LAB’ne zıt olarak enterokoklar GRAS (genellikle güvenli kabul edilen) statüsünde değildirler. Çünkü suda bulunmaları fekal kontaminasyonun bir indikatörü olarak kabul edilmektedir (Godfree et al., 1997). Ancak, enterokoklar fonksiyonel özelliklerinden yani asitlik, proteoliz ve lipolitik aktiviteleri, sitrat metabolizması, probiyotik özellikleri ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip proteinleri sentezleme yeteneklerinden dolayı fermente gıda endüstrisinde önemli yer tutan laktik asit bakterilerinden birisidir (Andrighetto et al. 2001; Sarantinopoulos et al., 2001; Giraffa 2003; Franz et al., 2003; Foulquie Moreno et al., 2006; Ogier 2008).

Bu çalışmanın amacı, yöresel olarak üretilen peynirlerde antimikrobiyal aktiviteye sahip LAB’lerini izole etmek ve tanımlamaktır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Peynir örnekleri

Bu çalışmada, Tokat yöresinde geleneksel olarak üretilen peynirler materyal olarak kullanılmıştır. Peynir örnekleri aseptik koşullarda alınarak Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiş ve örnekler mikroorganizmaların izolasyon işlemleri tamamlanıncaya kadar +4°C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.2. Bakteri Kültürleri ve Besiyerleri

Çalışmanın amacı, patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip bakterilerin izolasyonu ve tanısı olduğu için indikatör test

mikroorganizmaları olarak *Lactobacillus plantarum*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan indikatör mikroorganizmalar Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü ve Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilmiştir. Laktik asit bakterileri % 20 gliserol içeren de Mann Rogosa Sharpe (MRS) (Merck, Germany) besiyerinde, diğer bakteriler ise % 20 gliserol içeren Brain Hearth Infusion (BHI) (Merck, Germany) besiyerinde -80°C’de muhafaza edilmişlerdir.

Araştırmada gıda örneklerinden bakterilerin izole edilmesinde Nutrient Broth (NB) (Merck, Germany), izole edilen bakteriler ile patojen mikroorganizmaların geliştirilmesinde ise BHI, indikatör bakterilerden laktik asit bakterilerin geliştirilmesinde MRS besiyeri kullanılmıştır.

2.3. Gıda Örneklerinin İzolasyon İçin Hazırlanması

Gıda örneklerinden steril kabinde steril bıçak, pens ve spatülalar vasıtasıyla 10 gram alınıp 90 ml NB besiyerine aktarılmış ve karıştırılarak homojenize edilmiştir. 1-3 saat 25°C’de bekletildikten sonra 10⁻⁶-10⁻⁷,ye kadar bir dizi dilüsyonlar hazırlanmıştır. Dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak Nutrient agar’a 2’şer paralelli olacak şekilde aktarılmış ve drigalski spatülü ile petri döndericisi kullanılarak yayma işlemi gerçekleştirilmiştir. Örnekler 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

2.4. Antimikrobiyal Aktivite Testleri

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde Mayr-Harting et al. (1972) tarafından bildirilen “Sandviç Yöntemi” kullanılmıştır. Laktik asit bakterileri için % 0,8 agarlı MRS, diğer bakteriler için ise % 0,8 agarlı BHI besiyerleri eritilip 35-40°C’ye soğutulduktan sonra üzerine indikatör mikroorganizmalar ilave edilmiştir. İndikatör mikroorganizmaları içeren yumuşak agarlı besiyerleri 30-300 arasında koloni bulunan petrilere eklenmiş ve indikatör bakterilerin optimum gelişme sıcaklıkları olan 32°C ve 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda 2 mm ve daha büyük inhibisyon zonu gösteren

kolonilerin pozitif olduğu kabul edilerek değerlendirilmeye alınmıştır.

2.5. Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Bakterilerin İzolasyonu ve Tanısı

Sandviç yöntemi ile indikatör mikroorganizmalara karşı inhibitör aktivite gösteren koloniler izole edilip MRS besiyerine öze yardımı ile aktarılmış ve saf kültürleri hazırlanmıştır.

2.6. Genel Mikrobiyolojik Analizler

Genel mikrobiyolojik analizlerden Gram ve spor boyama, hemoliz, katalaz, Voges Proskauer, indol, hareketlilik ve jelatin hidroliz testleri Temiz (2000)'e göre yapılmıştır.

İzolatların sütte asit üretim yeteneğini saptamak için UHT süte %1 oranında bakteri ilave edilip 37°C'de inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon işleminin belirli aralıklarında (6, 16, 24. saat ve 7. gününde) pH metre ile pH değerleri ölçülmüştür.

Glikoz broth besiyerinde oluşturulan en son asitlik testi için besiyerine %1 oranında bakteri inoküle edilmiş ve 32°C'de 24 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon işlemi sonunda kültür ortamının pH değeri belirlenmiştir.

2.7. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Testi

İzole edilen suşlar MRS sıvı besiyerine % 1 oranında aşılansarak 4, 15, 30, 37, 45, 55 ve 60°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 24, 48, 72 saatlerinde örnek alınarak 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Perkin Elmer UV/VIS Spektrofotometre Lambda EZ) okuma yapılmıştır. Gelişme gösterenler pozitif, göstermeyenler ise negatif olarak işaretlenmiştir. Negatif kontrol olarak bakteri içermeyen MRS sıvı besiyeri kullanılmıştır.

2.8. Farklı pH'larda Gelişme Testi

İzolatlar 5 M ve 0,01 M fosforik asit ve NaOH ile pH'ları 4.5, 6.0, 8.0, 9.2 ve 9.6'ya ayarlanan MRS sıvı besiyerlerine % 1 oranında ilave edilip 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede okuma yapılmış ve gelişme gösterenler pozitif, göstermeyenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Bakteri içermeyen MRS sıvı besiyeri negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

2.9. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme

İzole edilen suşların hangi tuz konsantrasyonlarında gelişebildiğini belirlemek amacıyla %3.0, 4.0, 6.5 ve 10 tuz konsantrasyonu içeren MRS sıvı besiyerine %1 oranında inoküle edilip 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Gelişme gösterenler pozitif, göstermeyenler ise negatif olarak kabul edilmiştir. Negatif kontrol olarak bakteri içermeyen MRS sıvı besiyeri kullanılmıştır.

2.10. Karbonhidrat Fermantasyon Testleri

İzolatların çeşitli karbonhidrat kaynaklarını kullanım kabiliyetleri API strep 20 ve API 50 CHL fermantasyon testi kullanılarak TÜBİTAK Atal'da yaptırılmıştır.

2.11. Yağ Asidi Profili Testleri

İzolatların yağ asidi profilleri Sherlock Tanımlama Sistemi (MIS) kullanılarak Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi tarafından yapılarak belirlenmiştir.

2.12. Antimikrobiyal Maddenin Bazı Özelliklerinin İncelenmesi

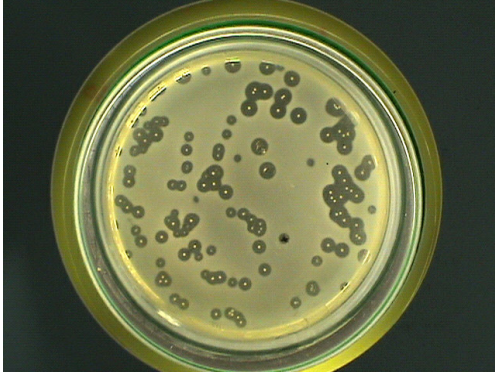
Üretilen antibakteriyel maddenin protein doğasında olup olmadığının belirlenmesi için, izole edilen *Enterococcus faecalis* KP MRS sıvı besiyerinde 30°C'de 18 saat süreyle geliştirilmiştir. Bu süre sonunda kültürler 5000 devirde 15 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Hücre içermeyen süpernant kısmı yeni tüplere aktarılmış ve pH'sı 5 M NaOH kullanılarak 6.5-7.0 arasında ayarlanmıştır. Daha sonra 0.45 µm por çapında steril membran filtrelerden (Sartorius, Germany) geçirilmek suretiyle sterilize edilmiştir. Nötralize edilmiş steril süpernatanta son enzim konsantrasyonu 0,4 mg/mL olacak şekilde katalaz, papain ve pepsin ilave edilmiş ve 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işlemi sonunda bakteriyosin aktivitesi Agar-Spot yöntemine göre belirlenmiştir. Bakteriyosin + fosfat tamponu, enzim + fosfat tamponu ve fosfat tamponu negatif ve pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Bakterilerin İzole ve Teşhis Edilmesi

Tokat yöresinde geleneksel olarak üretilen beyaz peynir örneklerin birinde kullanılan

indikatör bakterilerden *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ve *Listeria monocytogenes*'e karşı inhibitör aktiviteye sahip koloniler belirlenmiştir (Şekil 1). İnhibitör zonu veren bakteri kolonileri MRS broth besiyerine aktarılarak saf kültürleri hazırlanmıştır.



Şekil 1. Peynirden izole edilen bakterinin *Lactobacillus plantarum*'a karşı inhibitör aktivitesi.

Saf kültürleri hazırlanan koloniler ilk olarak genel mikrobiyolojik analizlere alınmıştır. Analizler sonucunda izole edilen bakterilerin Gram pozitif, tek, ikili ve kısa zincirler halinde kok şeklinde ve hareketsiz olduğu görülmüştür. Bakterinin katalaz, hemoliz, indol ve Voges Proskauer negatif olduğu, endospor oluşturmadığı ve jelatinaz aktivitesine sahip olmadığı tespit edilmiştir. Sütte gelişimi sırasında pH değerini 24 saat ve 7 gün sonra 4,44 ve 4,38 değerlerine düşürdüğü ve glikoz broth besiyerinde 24 saat sonra oluşturduğu en son asitliğin ise 4,30 pH olduğu görülmüştür. Ayrıca 45°C'den daha düşük sıcaklıklarda, pH 4,5-9,6 ve % 3,0-6,5 NaCl konsantrasyonunda gelişebildiği belirlenmiştir (Tablo 1).

İzolatların karbonhidrat profilini belirlemek amacıyla uygulanan API strep 20 ve API 50 CHL testinin sonuçları Tablo 2'de verilmiştir. İzolatların glukoz, fruktoz, mannoz, maltoz, laktoz, sakaroz, riboz, trehaloz, melezitoz ve amidon pozitif, mellobiyoz, melibiyoz, ksiloz ve ramnoz negatif olduğu tespit edilmiştir. API strep 20 ve API 50 CHL testleri sonucunda cins ve tür düzeyinde yüksek bir korelasyonla izolatın *Enterococcus faecalis* olduğu belirlenmiştir.

Tablo 1. İnhibitör aktiviteye sahip bakterinin bazı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

Analizler	İzolat
Gram Boyama	+
Morfoloji	Kok
Katalaz Testi	-
Endospor Testi	-
Hemoliz testi	-
Hareketlilik	-
İndol Testi	-
Voges Proskauer	-
Jelatin Hidrolizi	-
pH Gelişme Aralığı	
pH 4,5	+
pH 6,0	+
pH 8,0	+
pH 9,6	+
NaCl Gelişme Aralığı	
% 3 NaCl	+
% 4 NaCl	+
% 6,5 NaCl	+
% 10 NaCl	-
Sıcaklık Gelişme Aralığı	
10°C	+
25°C	+
37°C	+
45°C	-
Sütte asit üretimi	pH 4,38
Glikoz Broth besiyerinde oluşturulan en son asitlik	pH 4, 30

+ : Üreme var; - : Üreme yok

Tablo 2. İnhibitör aktiviteye sahip koloninin karbonhidrat fermentasyon profili

Karbonhidratlar	İzolat	Karbonhidratlar	İzolat
Gliserol	-	Maltoz	+
Mellobiyoz	-	Laktoz	+
Eritrol	-	Melibiyoz	-
D-Arabinoz	-	Sakkaroz	+
L-Arabinoz	-	Trehaloz	+
Riboz	+	İnulin	-
D-Ksiloz	-	Melezitoz	+
L-Ksiloz	-	D-Rafinoz	-
Adonitol	-	Amidon	+
α-metil-ksilosit	-	Glikojen	-
Galaktoz	+	Ksilitol	-
D-Glukoz	+	β-gentiobiyoz	-
D-Fruktoz	+	D-Turanoz	-
D-Mannoz	+	D-Liksoz	-
L-Sorboz	-	L-Tagotoz	-
Ramnoz	-	D-Fukoz	-
Dulsitol	-	L-Fukoz	-
İnositol	-	D-Arabitol	-
Mannitol	-	L-Arabitol	-
Sorbitol	-	Glukonat	+
α- metil-mannoz	-	2-keto-glukonat	-
α-metil-glukozit	-	5-keto-glukonat	-
N-asetil glukozamin	+	Hippurat hidrolizi	ND
Amigdalın	-	Pirrolidonilril amidaz	-
Eskulin	+	β-Galaktozidaz	+
Salisin	+	Lösin	-
Sellobioz	+	aminopeptidaz	+
Arbutin	+	Arjinin dihidrolaz	+

+ : Pozitif reaksiyon; - : Negatif reaksiyon; ND: Belirlenmedi

İzolatan yağ asidi profili analizi de söz konusu bakterinin *Enterococcus faecalis* olduğunu doğrulamıştır (Tablo 3). Hücre membranında bulunan başlıca yağ asidinin palmitik asit (%33,49) ve oleik asit (%23,98) olduğu saptanmıştır.

Tablo 3. İnhibitör aktiviteye sahip koloninin yağ asidi profili

Yağ asidi	%
Laurik Asit (12:0)	1,48
Miristik Asit (14:0)	16,12
Sum in Feature 3 (16:1 w7c/15 iso 2OH)	5,86
Sum in Feature 3 (15:0 ISO 2OH/16:1w7c)	1,89
Palmitik Asit (16:0)Miristik Asit (14:0)	33,49
Oleik Asit (18:1 w7c)	23,98
10-metilen oktadekonat (19:0 cyclo w8c)	17,18
Araşhidonik Asit (20:4 w6, 9, 12, 15c)	0,40
Summed Feature 3 (16:1 w7c/15 iso 2OH, 15:0 ISO 2OH/16:1w7c)	7,75

Genel mikrobiyolojik analiz sonuçları da izolatan tipik *Enterococcus faecalis* tütünün özelliklerini taşıdığını ortaya koymuştur (Munt 1986; Axelson 1993; Ogier 2008).

3.2. Antimikrobiyal Maddenin Doğası

Enterococcus faecalis tarafından üretilen antimikrobiyal maddenin test edilen enzimlerden sadece papaine karşı duyarlı, ancak

pepsin ve katalaza karşı duyarlı olmadığı belirlenmiştir. Nötralizasyon çalışması ile antimikrobiyal aktivitenin asitlikten, katalaz testi ile de H₂O₂'ten kaynaklanmadığı tespit edilmiştir. Proteolitik enzimlerden papaine karşı hassas olması antimikrobiyal maddenin protein tabiatında bir bileşik olduğunu göstermektedir. Hücre içermeyen steril süpernatantın *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ve *Listeria monocytogenes*'a karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Fakat test edilen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve

Bacillus cereus'a karşı etkili olmadığı gözlenmiştir. Laktik asit bakterilerinin patojen ve bozulma etmeni birçok bakteriye karşı etkili bakteriyosin, organik asitler, diasetil, CO₂ ve hidrojen peroksit gibi farklı antimikrobiyel maddeler ürettikleri birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Rodriguez, 2003; Koponen, 2004; Devlieghere et al., 2004; Työppönen, 2004).

Teşekkür

Bu çalışma Devlet Planlama Teşkilatı (DPT, Proje No: 2002K1120270) tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Andrighetto, C., Knijff, E., Lombardi, A., Torriani, S., Vancanneyt, M., Kersters, K., Swings, J., Dellaglio, F., 2001. Phenotypic And Genetic Diversity of Enterococci Isolated From Italian Cheeses. *J. Dairy Res.* 68, 303– 316.
- Axelsson, L.T., 1993. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In “Lactic Acid Bacteria” Salmina, S., Wright, A.V., pp. 1-63, Marcel Dekker Inc. USA.
- Devlieghere, F., Vermeiren, L., Debevere, J. 2004. New Preservation Technologies: Possibilities And Limitations. *Inter. Dairy J.* 14: 273-285.
- Franz, C.M.A.P., Stiles, M. E., Schleifer, K. H., Holzapfel, W. H. 2003. Enterococci In Foods A Conundrum For Food Safety. *Int. J. Food Microbiol.*, 88:105–122.
- Foulquie Moreno, M.R., 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.
- Giraffa, G. 2002. Enterococci From Foods. *FEMS Microbiol. Rev.*, 26, 163– 171.
- Giraffa, G. 2003. Functionality of Enterococci In Dairy Products. *Int. J. Food Microbiol.*, 88: 215– 222.
- Godfree, A.F., Kay, D., Wyer, M.D., 1997. Faecal Streptococci As Indicators Of Faecal Contamination In Water. *Soc. Appl. Bacteriol.Sym. Series* 26:110–119.
- Koponen, O. 2004. Studies Of Producer Self – Protection And Nisin Biosynthesis Of *Lactococcus lactis*, Doctoral issertation, Institute Of Biotech. And Department Of Appl. Chem. Microbiol. Helsinki.
- Mayr-Harting, A., Hedges, A.J., Berkley, R.W. 1972. Methods For Studying Bacteriocins. Pp. 315-442. In ‘Methods In Microbiology, J.R. Norris And N.W. Ribbons (Eds.) Vol 7A.
- Mundt, O.J. 1986. Enterococci. In: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.G. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2. Williams and Wilkins, Baltimore. pp. 1063– 1065.
- Rodriguez, J.M, Martinez, M.I., Horn, N., Dodd, H.M., 2003. Heterologous Production of Bacteriocins by Lactic Acid Bacteria. *Int. J. Food Micro.* 80: 101-116.
- Ogier, J.C., Serror, P. 2008. The *Enterococcus* genus. *Int. J. Food Microbiol.* (in pres).
- Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalaki, M.D., Rea, M.C., Lombardi, A., Cogan, T.M., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. 2001. Biochemical Properties of Enterococci Relevant to Their Technological Performance. *Int. Dairy J.*, 11: 621–647.
- Schleifer, K.H., Kilpper-Balz, R., 1984. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 34, 31– 34.

Yöresel Peynirden Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterisinin İzolasyonu ve Tanısı

- Stiles, M. E., Holzapfel, W. H., 1997. Lactic Acid Bacteria of Foods and Their Current Taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.*, 36: 1- 29.
- Temiz, A. 2000. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. III. Baskı. Hatıñođlu Yayınevi. Ankara.
- Työppönen, S., Petaja, E., Mattila-Sandholm, T. 2003. Bioprotectives And Probiotics For Dry Sausages. *Int. J. of Food Microbiol.* 83: 233– 244.