

Burdur Halk Pazarlarından Toplanan Beyaz Peynirlerde Patojen *Candida* spp. Varlığının Belirlenmesi

Özen Yurdakul¹, Erhan Keyvan¹, Tuğba Ersoy²

¹ Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Burdur

² Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Burdur

Geliş Tarihi / Received: 01.06.2016, Kabul Tarihi / Accepted: 21.09.2016

Özet: Mayalar, gıdaların kalite ve güvenliğini etkileyen gıda endüstrisi için oldukça önemli mikroorganizmalar olup gıdalarda bozulmalara yol açabilirler. *Candida* türleri hastane enfeksiyonlarında önemli bir yere sahip iken son yıllarda gıdalar vasıtasıyla da insanlara bulaşabilmektedir. Bu çalışma ile halk pazarlarından toplanan peynirlerde patojen *Candida* türlerinin varlığının araştırılması amaçlandı. Analiz edilen 100 adet peynir örneğinin 84 (%84)'ünde patojen *Candida* spp. pozitif olarak bulundu ancak hiçbirinde *C. albicans* saptanamadı. Bu çalışmada API 20 C AUX Test Kit'i ile 103 adet izolatın tür ayrımı yapıldı. Elde edilen test kit sonuçlarına göre izolatların %14'ü *C. krusei*, %5'i *C. tropicalis* olarak tanımlandı. Gıda örneklerinin mikrobiyolojik incelemesinde toplam maya ve küf sayısı ile birlikte patojen mayaların varlığına yönelik analizlerin de yapılması toplum sağlığı açısından yararlı olacağı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Beyaz peynir, patojen *Candida* spp., mantar, maya.

Determination of Pathogen *Candida* spp. in White Cheese Collected from Burdur's Public Bazaars

Abstract: Yeasts are very important microorganisms for the food industry that affects food quality and safety and yeasts may lead to spoil of the foods. The goal of this study was to evaluate the incidence of pathogen *Candida* spp. collected from cheese samples in public bazaar. *Candida* species are important for hospital infections which have been able to infect humans by food in recent years. *Candida* spp. were positive 84% of 100 cheese samples. In this study we were isolated 103 isolate which were identified with API 20 C AUX Test Kit. According to test kit results, *C. albicans* wasn't isolated any cheese samples and 14% were identified as *C. krusei*, 5% were identified as *C. tropicalis* from *Candida* spp. positive cheese samples. As a result, microbiological analysis of food samples should be made not just for the total number of mold, the samples should also be tested for the presence of pathogenic yeast it would be beneficial for public health.

Keywords: Fungi, pathogen *Candida* spp., white cheese, yeast.

Giriş

Mayalar, gıdaların kalite ve güvenliğini çeşitli şekillerde etkileyen gıda endüstrisi için oldukça önemli mikroorganizmalardır. Geleneksel olarak ekmek, bira ve şarap üretiminde kullanılırlar. Ayrıca bazı mayalar peynirlerin olgunlaştırılması ve ürünlere özgü karakterler kazandırılması amacıyla starter kültür olarak da kullanılmaktadır [11,18].

Candida spp.'ler *Ascomycetes* grubuna ait kommensal ökaryotik maya türleridir. Mayalar çevre, insan ve diğer memelilerde bulunabilirler [20]. Özellikle memelilerde gastrointestinal ve genitoüriner sistem mukoza florasında bulunurlar [14]. Bazı maya türleri gıda güvenliğini olumsuz yönde etkileyerek fırsatçı patojen olarak enfeksiyonlara neden

olabilirler [1,9]. Patojen *Candida* türleri *C. albicans* ve *Candida non-albicans* türleri olarak da sınıflandırılmaktadır. Patojen *Candida* türleri içinde yer alan *C. albicans* insanlarda oral ve sistemik kandidiyasise neden olan en yaygın ve en patojen türdür [8,33,38]. *Candida non-albicans* türleri arasında *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondi*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* ve *C. dubliniensis* yer almaktadır. Süt sektörü açısından yüksek prevalans ve patojeniteye sahip patojen *Candida* türleri arasında klinik öneme sahip olan türler *C. albicans*, *C. krusei* ve *C. tropicalis*'tir [22].

Peynir mikroflorası peynirin tat, lezzet, aroma ve tekstür gibi yapılarını etkileyen en önemli bileşenlerindedir [2]. Bu kompleks mikroflorida

bakteri, maya, küf gibi mikroorganizmalar bulunabilmektedir [5,32]. Peynirde bulunan mikroorganizmaların çeşitliliği ve sayısı; sütün mikrobiyal kalitesine, süte uygulanan işlemlere, peynirin olgunlaştırılması sırasındaki nem ve sıcaklığa bağlı olarak değişiklik gösterebilir [34].

Bazı *Candida* türleri gıdaların üretim sürecinde kullanılırken bazıları ise gıdanın bozulmasında etkili olmaktadır. Bunun yanında *Candida* türleri et ve süt ürünlerinde starter kültür olarak da kullanılabilir. Proteolitik, glikosidaz ve pektinolitik aktivite sonucu üretilen sekonder metabolitler ile lipolitik aktivite, üreaz aktivitesi, ozmotolerans, geniş üreme aralığı, etanole tolerans ve düşük su aktivitesi gibi özelliklerinden gıda işlemlerinde yararlanılmaktadır [12,29].

Patojen *Candida* spp. beşeri hekimlikte sorun yaratmakta ve *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei*'ye bağlı infeksiyonlarda bir artış gözlenmektedir. Veteriner hekimlikte de *Candida* spp. özellikle son yıllarda mastitis etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır [4]. Kontamine sütlerin ısı işlem uygulanmadan kullanılması ya da ürün haline getirilmesi, kötü koşullarda üretim, paketleme ve satışa bağlı olarak insanlar gıdalar ile enfeksiyona yakalanmaktadır [20,21].

Patojen *Candida* türlerinin gıdalarda varlığı durumunda hastalık oluşturabileceği çoğu araştırmacı tarafından göz ardı edilen bir konudur. Bu çalışma ile pazarlardan toplanan beyaz peynirlerde patojen *Candida* türlerinin varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Burdur ili semt pazarlarından Ocak 2014-Aralık 2014 tarihleri arasında toplanan 100 adet beyaz peynir örneği soğuk zincir altında laboratuvara getirildi. Her bir gıda örneği aseptik koşullar altında steril plastik torbalara 10'ar g olacak şekilde tartıldı. Üzerine 90 ml steril peptonlu su (%0.1) ilave edildikten sonra 1-2 dakika süre ile homojenizatörde (iul, Spain) homojenize edildi. Homojenat 10⁻⁸ desimal sulandırmaya kadar hazırlanarak CHROMagar *Candida* (CHROMagar *Candida*, USA) besiyerine ekim yapıldı. Petriler 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda yeşil koloniler *Can-*

didida albicans, pembe zon ile çevrili mavi koloniler *Candida tropicalis*, pembe koloniler *Candida krusei*, beyazdan leylak rengine doğru değişen koloniler diğer türler olarak değerlendirildi [19].

Peynirlerde toplam aerob bakteri yükünü tespit etmek amacıyla Plate Counte Agar'a (PCA) (Merck, 1.05463) 30°C'de 22-24 saat, genel maya-küf sayılarının tespiti amacıyla Patato Dextrose Agar'a (PDA) (Merck 1.10130) 24°C'de 4-5 gün inkübasyona bırakıldı [13].

API testi ile doğrulama

Elde edilen *Candida* spp. şüpheli izolatlar API 20 C AUX Test Kit (bioMérieux, France) ile üretici direktiflerine göre doğrulandı [28].

Bulgular

Bu araştırmada, 100 adet beyaz peynir örneğinin 84 (%84)'ünde *Candida* spp. pozitif olarak bulundu. Peynir örneklerinin hiçbirinde *C. albicans* saptanamadı. Beyaz peynir örneklerinden elde edilen 103 adet şüpheli izolata tür ayrımı amacıyla API 20 C AUX Test Kit'i uygulandı. API 20 C AUX Test Kit'i sonuçlarına göre izolatların %14'ü *C. krusei*, %5'i *C. tropicalis* olarak doğrulandı. Analizlere ait mikrobiyolojik veriler incelendiğinde; PCA'da üreyen toplam aerob mezofil bakteri sayısının ortalama 8,42±0,13 log kob/g, PDA'da üreyen maya küf sayısının ortalama 7,56±0,14 log kob/g, CHROMagar *Candida*'da üreyen *Candida* spp. sayısının ise ortalama 4,60±0,25 log kob/g olduğu tespit edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Peynir örneklerinde maya-küf, aerob mezofil genel canlı sayısı ve *Candida* spp. sayıları (log cfu g-1).

	Maya küf sayısı	<i>Candida</i> spp sayısı	Aerob mezofil genel canlı sayısı
	PDA	CHROMagar <i>Candida</i>	PCA
n	100	100	100
Min	2,20	0,00	3,20
Max	10,18	7,63	11,00
x±Sx	7,56±0,14	4,60±0,25	8,42±0,13

x: Ortalama, Sx: Standart hata, n: pozitif numune sayısı
PDA: Patato Dextrose Agar
PCA: Plate Count Agar

Tartışma ve Sonuç

Beyaz peynirde toplam aerob mezofil canlı bakteri sayısını etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Beyaz peynir yapımında kullanılan sütün pastörize edilmemesi, hijyenik kurallara uyulmaması ve peynirin olgunlaştırılmadan taze olarak tüketime sunulması gibi sebepler peynirin mikrobiyolojik kalitesini etkilemektedir. Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre; toplam aerob mezofil bakteri sayısının ortalama $8,42 \pm 0,13$ log kob/g olarak saptanmıştır. Sert ve Kıvanç [30] Erzurum yöresinde yapılan bir çalışmada taze peynir örneklerindeki toplam aerob mezofil bakteri sayısının $9,3 \times 10^7 - 9,5 \times 10^9$ kob/g olduğu belirtilmiştir. Kurşun ve ark. [15] Burdur İli'nde küçük ölçekli süt mandıralarından topladıkları 100 adet beyaz peynir örneğinde toplam aerob mezofil bakteri sayısını $4,6 \times 10^6$ ile $1,0 \times 10^9$ kob/g değerleri arasında olduğunu saptamıştır. Yalçın [37] tüketime sunulan 50 adet salamura beyaz peynirde ortalama $2,7 \times 10^8$ kob/g toplam aerob mezofil bakteri saptamıştır. Çelik ve ark.[6] salamura beyaz peynir örneklerinde ortalama toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını $8,9 \times 10^7$ kob/g olarak bildirmiştir. Uğur [35] Muğla'da yaptığı çalışmada beyaz peynirlerdeki toplam aerob mezofil bakteri sayısını $1,8 \times 10^6 - 6,0 \times 10^8$ kob/g değerleri arasında olduğunu saptamıştır. Çalışma sonuçları bulduğumuz sonuçlara benzerlik göstermektedir.

Beyaz peynirlerde toplam maya-küf sayısına bakıldığında yaptığımız çalışmada maya küf sayısının ortalama $7,56 \pm 0,14$ log kob/g olarak bulundu. Kurşun ve ark. [16] yaptıkları bir çalışmada küçük ölçekli süt mandıralarından temin ettikleri beyaz peynir örneklerinin % 20'sinde toplam maya-küf sayısını $10^4 - 10^5$ kob/g düzeyinde olduğunu belirtmişlerdir. Uğur [35] incelediği peynir örneklerinde maya ve küf sayısı $3,7 \times 10^3 - 3,9 \times 10^6$ kob/g arasında, ortalama $1,0 \times 10^6$ kob/g olarak tespit etmiştir. Dığrak ve ark. [7] peynir örneklerindeki maya ve küf sayısının $2,2 \times 10^2 - 8,3 \times 10^6$ kob/g değerleri arasında değiştiği, ortalama sayının $1,0 \times 10^6$ kob/g olduğu belirtilmiştir. Sert ve Kıvanç [30] Erzurum'da satışa sunulan beyaz peynirlerdeki toplam maya ve küf sayısının ortalama olarak $2,6 \times 10^6$ kob/g olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonuçlarımızın diğer sonuçlardan daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çiğ süttten üretilen süt ürünleri, mayaları da içeren birçok patojen mikroorganizmanın taşınmasında ve potansiyel sağlık riski oluşturması bakımından gıda güvenliğini olumsuz etkilemektedir [17, 21, 25]. Hayvanlarda meme enfeksiyonlarındaki patojen *Candida* türlerinin varlığının artması süt ürünlerini de bu patojen bakımından riskli hale getirmektedir [4,26].

Bu çalışmada toplanan 100 adet peynir örneğinin 84 (%84)'ünde *Candida* spp. pozitif olarak tespit edilmiştir. Yapılan ekim sonuçları incelendiğinde ise toplanan örneklerin önemli bir kısmında maya ve küf varlığına rastlanmıştır (Tablo 1). Wanderley ve ark. [36] geleneksel olarak üretilen 45 artisanal peynirinin %2.4'ünde *C. albicans*, % 79.3'ünde *C. krusei* ve % 6.0'sında *C. tropicalis* olduğunu bildirmiştir. *Candida parapsilosis* bazı peynirlerden (İsveç tipi peynir, mavi peynir ve çedar peyniri) izole edilen ve invaziv kandidiyazis oluşturan önemli bir *Candida* türü olarak tespit edilmiştir. Ancak gıda kaynaklı bir risk belirtilmemiştir [23]. *C. parapsilosis* bitki, toprak, su gibi çevresel kaynaklardan da izole edilmiştir [24] "Manteca" adı verilen İtalyan tipi bir peynirin dominant florasında bulunmuştur [31]. Türkiye'de yapılan bir çalışmada; toplanan 100 adet peynir örneğinin %7.0'sinde *C. albicans*, %12'sinde *C. krusei* ve % 3.0'ünde *C. tropicalis* olduğu saptanmıştır [16].

Peynirlerde maya ve küfler ile kontaminasyon starter kültür, hava, ekipman, salamura suyu, personel gibi çeşitli yollar ile olabilir [3,25,27]. Bazı mayalar tat, lezzet ve görünüm gibi yararlı özellikleri ile etkili olurken bazıları da peynirlerde bozukluklar meydana getirebilir. Gıda kaynaklı enfeksiyonlara sebep olabilir. Medikal önemi olan ve peynirlerden izole edilen *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *C. krusei* ve *C. glabrata* gibi *Candida* türleri de bulunmaktadır [8,10,36].

Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besiyerleri toplam maya ve küf sonucuna yönelik olup patojen maya ve küfleri ayırt edememektedir. Gıda örneklerinin mikrobiyolojik incelemesinde; toplam maya ve küf sayısı ile birlikte patojen mayaların varlığına yönelik incelemeler de toplum sağlığı açısından önemlidir. Bu verilere göre pazarlarda satılan peynirlerin *Candida* spp. yönünden büyük bir risk oluşturduğu ve toplumun bu risk bakımından

bilgilendirilmesi ve bu alana yönelik kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Banjara N, Suhr, MJ, Hallen Adams HE, (2014). Diversity of Yeast and Mold Species from a Variety of Cheese Types. *Curr Microbiol*, 70, 792-800.
- Beresford TP, Fitzsimons N, Brennan NL, Cogan TM, (2001). Recent advances in cheese microbiology. *Int Dairy J*, 11, 259-274.
- Borelli BM, Ferreira EG, Lacerda ICA, Franco GR, Rosa CA, (2006). Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. *World J Microbiol Biotechnol*, 22, 1115-1119.
- Crawshaw WM, Macdonald NR, Duncan G, (2005). Outbreak of *Candida rugosa* mastitis in a dairy herd after intramammary antibiotic treatment. *Vet Res*, 156, 812-813
- Creppy EE, (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Lett*, 127, 19-28.
- Çelik S, Özdemir C, Özdemir S, Sert S, (1998). Diyarbakır yöresinde tüketime sunulan salamura beyaz peynir örneklerinin mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Geleneksel Süt Ürünleri. Ankara: Milli Produktivite Yayınları, 621, 351-360.
- Diğrak M, Yılmaz Ö, Çelik S, Özçelik S, (1996). Elazığ'da satışa sunulan taze beyaz peynirlerin mikrobiyolojik kalitesi ve yağ asitleri analizi. *Turk J Biology*, 20, 221-230.
- El-Sharoud WM, Belloch C, Peris D, Querol A, (2009). Molecular identification of yeasts associated with traditional Egyptian dairy products. *J Food Sci*, 74, M1-M6.
- Fleet GH, (2007). Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety. *Curr Opin Biotechnol*, 18, 170-5.
- Gadaga TH, Mutukumira AN, Narvhus JA, (2000). Enumeration and identification of yeasts isolated from Zimbabwean traditional fermented milk. *Int Dairy J*, 10, 459-466.
- Haasum I, Nielsen PV, (1998). Physiological characterization of common fungi associated with cheese. *J Food Sci*, 63, 157-161.
- Hommel RK, (2014). *Candida*. Batt CA, Tortorollo ML. eds. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press Inc, San Diego. p.367-374.
- Koburger JA, Marth EH, (1984). Yeasts and Moulds. Speck ML. eds. *Compendium of Methods for the Examination of Foods A.P.H.A.* Washington D.C. p.197-202
- Kumamoto CA, (2011). Inflammation and gastrointestinal *Candida* colonization. *Curr Opin Microbiol*, 14, 386-391.
- Kursun O, Kırdar SS, Keyvan E, Guner A, (2011). Microbiological quality of white pickled cheese produced in small plants in Burdur, Turkey. *J Food Agric and Environ*, 9(2), 110-112.
- Kurşun Ö, Kale SA, Kırdar SS, (2008). Türkiye'deki Peynirlerde *Candida albicans* Varlığı. VIII. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı). 07-09 Ekim, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- Lavoie K, Touchette M, St-Gelais D, Labrie S, (2012). Characterization of the fungal microflora in raw milk and specialty cheeses of the province of Quebec. *Dairy Sci Technol*, 92, 455-468.
- Loretan T, Viljoen BC, Mostert JF, Vogel AM, Jordaan HF, (1998). A preliminary study of the diversity and technological properties of indigenous traditional South African fermented milk. Jakobsen M, Narvhus J and Viljoen BC. eds. *Yeasts in the dairy industry: positive and negative aspects. Proceedings of the symposium organized by Group F47; 1996 Sept 2-3; Brussels, Belgium.* p.178-82.
- Mathavi S, Sasikala G, Kavitha A, Indra PR, (2016). CHROMagar as a primary isolation medium for rapid identification of *Candida* and its role in mixed *Candida* infection in sputum samples Indra Priyadarsini. *Indian J Microbiol Res*, 3(2), 141-144.
- McManus BA, Coleman DA, (2014). Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of *Candida albicans*. *Infect Genet Evol*, 21, 166-168.
- Melville PA, Benites NR, Ruz-Peres M, Yokoya E, (2011). Proteinase and phospholipase activities and development at different temperatures of yeasts isolated from bovine milk. *J Dairy Res*, 78, 385-390.
- Miceli MH, Díaz JA, Lee SA, (2011). Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis*, 11, 142-151.
- Moran G, Coleman D, Sullivan D (2012). An introduction to the medically important *Candida* species. Calderone RA, Clancy CJ. eds. *Candida and candidiasis*, 2nd edn. ASM Press, New York, p.11-25.
- Moran G, Stokes C, Thewes S, Hube B, Coleman DC, Sullivan D, (2004). Comparative genomics using *Candida albicans* DNA microarrays reveals absence and divergence of virulence-associated genes in *Candida dubliniensis*. *Microbiol*, 150, 3363-3382.
- Mounier J, Goerges S, Gelsomino R, Vancanneyt M, Vandemeulebroecke K, Hoste B, et al, (2006). Sources of the adventitious microflora of a smear-ripened cheese. *J Appl Microbiol*, 101, 668-681.
- O'Brien NM, O'Connor TP, O'Callaghan JO, Dobson ADW, (2004). Toxins in cheese. Fox PE, McSweeney PLH, Cogan TM, Guinee TP. eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, vol 1, 3rd edn. Elsevier Academic Press, Amsterdam, p.562-571.
- Pereira-Dias S, Potes ME, Marinho A, Malfeito-Ferreira M, Loureiro V, (2000). Characterisation of yeast flora isolated from an artisanal Portuguese ewes' cheese. *Int J Food Microbiol*, 60, 55-63.
- Pincus DH, Coleman DC, Pruitt WR, Padhye AA, Salkin IF, Geimer M, Bassel A, Sullivan DJ, Clarke M, Hearn V, (1999). Rapid identification of *Candida dubliniensis* with commercial yeast identification systems. *J Clin Microbiol*, 37, 3533-3539.
- Sengun IY, Yaman DB, Gonul SA, (2008). Mycotoxins and mould contamination in cheese: a review. *World Mycotoxin J*, 1, 291-298.

30. Sert S, Kıvanç M, (1984). Erzurum piyasasında taze olarak tüketime sunulan beyaz peynirlerin kaliteleri üzerinde bir araştırma, Ankara Üniversitesi Ziraat Dergisi, 15, 79-89.
31. Suzzi G, Schirone M, Martuscelli M, Gatti M, Fornasari ME, Neviana E, (2003). Yeasts associated with Manteca. FEMS Yeast Res, 3, 159-166.
32. Swearingen PA, O'Sullivan DJ, Warthesen JJ, (2001). Isolation, characterization, and influence of native, non-starter lactic acid bacteria on cheddar cheese quality. J Dairy Sci, 84, 50-59.
33. Thompson GR, Patel PK, Kirkpatrick WR, Westbrook SD, Berg D, Erlandsen J, Redding SW, Patterson TF, (2010). Oropharyngeal candidiasis in the era of antiretroviral therapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 109, 488-495.
34. Torkar KG, Teger SG, (2006). The presence of some pathogen micro organisms, yeasts and moulds in cheese samples produced at small dairy-processing plants. Acta Agric Slov, 88, 37-51.
35. Uğur A, (2001). Muğla halk pazarında satışa sunulan ev yapımı peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri. Çevre Koruma Dergisi, 40, 3-8.
36. Wanderley L, Bianchin A, Arruda Teo CRP, Meneghello Fuentefria A, (2013). Occurrence and pathogenicity of *Candida* spp. in unpasteurized cheese. Braz J Biosci, 11, 145-148.
37. Yalçın S, (1987). Ankara ve yöresinde tüketime sunulan salamura beyaz peynirlerinin mikrobiyal ve kimyasal içerikleri ile duyuşsal nitelikleri arasındaki ilişki. Doğa TU Vet Hay Dergisi, 2, 189-198.
38. Zomorodian K, Haghighi NN, Rajaei N, Pakshir K, Tarazooie B, Vojdani M, Sedaghat F, Vosoghi M, (2011). Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. Med Mycol, 49, 208- 211.