

Etsiz Çiğ Köftelerde Patojen *Candida* spp. Varlığının Tespiti

Özen Kurşun Yurdakul¹, Seval Sevgi Kırdar², Erhan Keyvan¹

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

²Mehmet Akif Ersoy Univ., Burdur Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Böl., Süt ve Ürünleri Teknolojisi AD, Burdur

Geliş Tarihi / Received: 31.10.2016, Kabul Tarihi / Accepted: 14.04.2017

Özet: Çiğ köfte, pişirilmeden tüketilen geleneksel hazır bir gıdadır. Artan tüketici taleplerinin karşılanabilmesi için endüstriyel üretimi yoğunluk kazanmış olan çiğ köfte, halk sağlığının korunması amacıyla çiğ et ilavesi olmadan üretilmektedir. Hammadde kalitesi, muhafaza koşulları, personel hijyeni ve ısıl işlem görmeden tüketilmesi gibi nedenler, çiğ köfteleri gıda hijyeni bakımından riskli hale getirmektedir. Bu çalışmada, 100 adet etsiz çiğ köfte örneği patojen *Candida* spp. varlığı yönünden analiz edildi. Etsiz çiğ köfte örneklerinin %10'unda *Candida albicans*, %2'sinde *C. albicans* ve *C. krusei* ile %2'sinde ise *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* olmak üzere üç farklı tür ile kontaminasyon tespit edildi. Gıda örneklerinin mikrobiyolojik incelemesinde toplam maya ve küf sayısı ile birlikte patojen mayaların varlığına yönelik analizlerin de yapılması toplum sağlığı açısından yararlı olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Etsiz çiğ köfte, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*.

Detection of Pathogen *Candida* spp. in Cig Kofte-Meatless Raw Meatball

Abstract: Cig köfte is a Turkish traditional ready to eat food and eaten without any cooking process. In order to maintain consumer demands, industrial production of cig köfte has become widespread in recent years, cig köfte is produced without the addition of raw meat for the protection of public health. Cig kofte is a potential problem for food hygiene because of such reasons like quality of raw material, storage conditions, personel hygiene and uncooked consumption. In this study, 100 meatless cig köfte samples were analyzed for occurrence of pathogen *Candida* spp. *Candida albicans* was detected 10%, *C. albicans* and *C. krusei* were detected 2% and *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. krusei* were detected 2% of meatless cig köfte samples. As a result of this studies, microbiological analysis of food samples should be detected for the presence of pathogenic yeast with total number of mold that it would be beneficial for public health.

Key words: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida*, Meatless raw meatball.

Giriş

Çiğ köfte perakende satışı son yıllarda giderek yaygınlaşan geleneksel ürünlerimizden biridir. Geleneksel üretimde; yağsız sığır eti kıyması ile ince öğütülen bulgur içerisine çeşitli baharatlar, sarımsak, salça ve maydanoz eklenir. Bulgur yumuşayana kadar elle yoğrulur ve şekil verilerek tüketime hazır hale getirilir. Çiğ köftede çiğ et bulunması, ilave edilen malzemelerin hijyeni ile personel ve ekipmanlara bağlı nedenlerle mikroorganizma ve parazit kontaminasyonu şekillenebilir. Halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturabileceğinden perakende satışlarda çiğ et kullanımı yasaklanmıştır. Etsiz hazırlanan çiğ köftelere ısıl işlemi uygulanmadığı için baharat, alet ekipman ve hazırlayan kişiye bağlı olarak tüketimi bazı durumlarda riskli olabilir [10, 28, 29]. Özellikle baharat ve baharat katkılı gıda maddelerinde patojen mikroor-

ganizmalardan kaynaklanan kontaminasyonlar her zaman mümkündür [12, 13 19].

Yeni antifungal ilaçların gelişmesi ile bu ilaçlara dirençli *Candida* türlerine bağlı enfeksiyonlarda önemli artışlar meydana gelmiştir. Hastane enfeksiyonu görülen yoğun bakım ünitelerinde bulunan mikroorganizmaların %51'i gram negatif bakteri, %35,2'si gram pozitif bakteri, %13,8'i *Candida* spp. olduğu görülmüştür [16]. *Candida* cinsi maya mantarları, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) hastanelerinde kan dolaşımı enfeksiyonlarında %8 ile dördüncü sırada görülen bir etkidir. İnvaziv kandidiyaz ile ilişkili mortalite önemlidir. Fransa'da yapılan toplum temelli yeni bir çalışmada, kandidemi ile ilişkili ölüm oranı %40 olarak bulunmuştur [4]. Hastane enfeksiyonları patojenleri arasında dördüncü sıraya yükselen ve yüksek mortalite oranına sahip patojen *Candida* türleri aynı zamanda gıdalarla da insanlara bulaşmaktadır. Son yıllarda patojen

Candida spp. önemli bir gıda patojeni olarak dik-katleri üstüne çekmektedir [25].

Candida türleri 6 µm büyüklüğünde, Gram pozitif, oval, hareketsiz, kapsülsüz, sporsuz, to-murcuklanan hücreler olarak görülürler. Yalancı hif (psödohif) oluştururlar. Bunlar arasında *C. albicans*, blastokonidyum ve yalancı hif yanında gerçek hifler de oluşturarak dimorfik özellik gösterir [11,22].

Candida türleri, rutin besiyerleri olarak kulla-nılan Sabouraud-dekstroza-agar (SDA)'da, 24°C'de ve 37°C'de 24 saatte üreyerek genellikle kirli-beyaz veya krem rengi, yumuşak kıvamlı ve tipik olarak mayamsı, kokulu koloniler yaparlar. Kolonilerin besiyeri yüzeyinde kalan kısımları blastokonidyum-lardan; besiyeri yüzeyinin altında ise yalancı hif-lerden oluşmuştur. *Candida* türleri, besiyerlerinde saptanan blastokonidyumların özellikleri ile blas-tokonidyumların yalancı hif boyunca dizilimlerine göre farklar gösterir. Ayrıca türlerin kesin tanısı için şeker fermentasyonu ve biyokimyasal testler yapılır [22, 31].

C. albicans'ın diğer *Candida* türlerinden ayrı-mında iki morfolojik test uygulanır. Serumda germ tüp oluşturması ve mısır unlu Tween 80 agarda klamidospore oluşumu *C. albicans*'ın karakteristik özelliğidir. *C. tropicalis* gerçek hif oluşturabilir, nadiren klamidospore oluşumu gözlenir, sukrozu asi-mile eder. *C. krusei* dekstrozu fermente eder ancak galaktozu asimile edemez [15].

Candida spp. türleri arasında en patojen tür *C. albicans* olup *C. tropicalis* ile *C. krusei*'ye bağlı enfeksiyonlarda da artış görülmektedir. *C. albicans*, hücre duvarında bulunan ve immünojen olan man-nan tabakasının yapısal değişikliğine bağlı olarak A ve B olmak üzere iki serotipe ayrılır. *C. albicans*'ın mannan dışında diğer antijenleri; salgısal proteazlar, enolaz ve ısı şok proteinleridir [20].

Biyofilm oluşturma özelliğine sahip olma-ları gıda sektörü açısından risk teşkil etmektedir. Biyofilm tabakada *Staphylococcus* spp. gibi bazı *Candida* türleri de slime benzeri yapılar oluşturmaktadır. Mikroorganizmalar bu slime tabakası içinde çoğalarak kalın bir film tabakasının şekillen-mesine neden olur. *Candida* biyofilminin antifungal direnç gelişimine katkısının olduğu belirtilmektedir [18, 24].

Candida türleri normal floranın bir parçasıdır. İnsanların %40-50'sinin gastrointestinal kanalında,

geçici ya da kalıcı olarak bulunurlar. Ayrıca insan-larda ağız, deri, tırnak, kıl folliküllerine yerleşebilir [23]. Bunlara ilave olarak gıda ve su ile alınarak has-talık meydana getirmektedir [5, 6, 30, 33]. *Candida* spp., vulvovaginitis, endokarditis, pnömoni, menin-gitis ve septisemi meydana getirebilir [23, 35].

Bu çalışmada, perakende satışı yapılan etsiz çiğ köftelerde patojen *Candida* spp. varlığının ortaya konulması ile gıda kaynaklı muhtemel enfeksiyon-lardaki rollerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada, sadece çiğ köfte üretimi yapan iş-letmelerden 100 adet etsiz çiğ köfte örneği alındı. Örnekler aseptik şartlar altında ve soğuk zincirde laboratuvara getirilerek analizleri yapıldı [14].

Referans izolatlar

Kontrol suşları olarak seçilen *C. albicans* (ATCC 97012), *C. tropicalis* (ATCC 13803), *C. krusei* (ATCC 14243) olmak üzere toplam 3 referans izolat kullanılmıştır.

Besiyerleri

Maya ve küf sayımı, pH'sı 3.5'e düşürülmüş Potato Dextrose Agar (PDA) (Difco B 13) besiyeri ile 22±1 °C'de 5 gün inkübe edilerek yapıldı [14]. Patojen *Candida* spp. saptanması amacıyla CHROMAgar™ *Candida* agar (CAC) kullanılmıştır [25].

Örneklerin analizi

Sadece çiğ köfte üretimi yapılan işletmelerden top-lam 100 adet etsiz çiğ köfte örneği toplanarak soğuk zincir altında laboratuvara getirildi. Her bir gıda ör-neği aseptik koşullarda steril plastik torbalara 10'ar g tartılıp üzerine 90'ar ml steril peptonlu su (%0.1) ilave edildikten sonra 2-3 dakika süre ile stomac-her'da homojenize edildi. Elde edilen homojenize karışımdan 10⁻⁵'e kadar desimal sulandırılmaları hazırlanarak PDA ve CAC besiyerine yayma plak tek-niği ile ekimleri yapıldı [3, 21, 27]

Candida spp. şüpheli kolonilerden Gram boyama, germ tüp testi, karbonhidrat fermentasyon test-leri (glikoz, maltoz, sukroz ve galaktoz) ile üreaz testleri gibi testler, biyokimyasal özelliklerin tespiti amacıyla yapıldı [8, 15].

Tablo 1. Patojen *Candida spp.*'nin CHROMagar *Candida* besiyerinde koloni görünümü ve türlerinin ayırımında kullanılan testler [8, 15, 26].

Tür ismi	CHROMagar koloni görünümü	Gram boyama	Germ tüp	Üreaz	Karbonhidrat Fermentasyon Testleri			
					Glikoz	Maltöz	Sukroz	Galaktoz
<i>C. albicans</i>	Yeşil koloniler	Gram (+)	+	-	AG	AG	A	AG
<i>C. tropicalis</i>	Metalik mavi-koyu mavi koloniler	Gram (+)	-	-	AG	AG	AG	AG
<i>C. krusei</i>	Açık pembe koloniler	Gram (+)	-	+	AG	-	-	-

A= asit oluşumu, AG= asit ve gaz oluşumu

Bulgular

Bu çalışmada, tüketime sunulan 100 adet etsiz çiğ köfte örneği patojen *Candida spp.* yönünden analize alındı. Etsiz çiğ köfte örneklerinin 10'unda (%10) patojen *Candida spp.* saptandı. Pozitif örneklerin tamamı (%10) *Candida albicans* pozitif olarak tespit edildi. *Candida spp.* kontaminasyonu olan etsiz çiğ köfte örneklerinin 2'sinde (%2) *C. albicans* ve *C. krusei*, 2'sinde de (%2) *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* olmak üzere diğer patojen türlerle kontaminasyon olduğu tespit edildi. Ayrıca analiz edilen 100 etsiz çiğ köfte örneğinde maya-küf sayılarının minimum 3.00 log kob/g ile maksimum 7.34 log kob/g arasında olduğu, ortalama ise 4.934±0.093 log kob/g düzeyinde olduğu saptandı.

Tartışma ve Sonuç

Çiğ köftede hijyen ve patojen mikroorganizma varlığı yönünden yapılan birçok çalışma bulunmasına rağmen, yüksek mortalite oranına sahip patojen *Candida spp.* varlığının analizine yönelik herhangi bir çalışmanın olmadığı görülmüştür. Gıdalarda yapılan mikrobiyolojik analizlerde, toplam maya-küf sayısının uygun bulunması özellikle patojen *Candida spp.* içermediğini göstermemektedir. Toplam maya-küf sayısının yanında patojen mayaların da analizinin yapılması halk sağlığı açısından meydana gelebilecek risklerin önlenmesi bakımından önemlidir.

Etsiz çiğ köfte örneklerinde 4,934±0,093 log kob/g olarak bulduğumuz ortalama maya-küf değeri karşılaştırıldığında; Vural ve Yeşilmen [34] ile Cetin ve ark. [9] tarafından bulunan değerden daha düşük, Cerit ve ark. [7] tarafından bulunan değerden yüksek, Sancak ve İşleyici [29], Aslan ve ark. [2] ve

Küplülü ve ark. [17] tarafından bulunan değerlere benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

TSE K 144 Standardına [1] göre çiğ köftede maya-küf sayısı yönünden analiz edilen 5 örnekten 2 tanesinde bulunabilecek maksimum değer 10³ kob/g olarak belirtilmiştir. Analize alınan etsiz çiğ köfte örneklerinin %99'u TSE K 144 Standardında verilen değerlerin üzerinde olduğu görülmüştür. Ticari olarak satışa sunulan etsiz çiğ köftelerin ilave katkı maddesi ve bol miktarda baharat içermesi, açıkta yoğurulması, üretimde kullanılan ekipman ve malzemelerin temizliği, satış yerinin hijyenik koşulları ve personel hijyeninin kötü olması gibi nedenlerle tüketimi riskli gıdalardan biri olduğu düşünülmektedir. Etsiz hazırlansa bile herhangi bir ısıl işleme tabi tutulmadan tüketime sunulması, gıda zehirlenme olgularının görülmesine neden olabilir [9, 29]. Uzunlu [32] yaptığı çalışmada çiğ köftelerin içerisine katılan karabiberde 4,00 log kob/g, kuru soğanda 5.32 log kob/g ve yeşil soğanda 4.11 log kob/g maya-küf sayısı olduğunu tespit etmiştir. Baharatlarda ve katkı maddelerinde yüksek maya-küf sayısı üretim sonrası da mikrobiyal yükün yüksek olmasına neden olur. Diğer önemli bir risk ise tüketim sırasında organoleptik değişiklik gözlenmemesi tüketicinin ürünün tüketmesini engellemektedir.

Gıda örneklerinin mikrobiyolojik incelemesinde toplam maya ve küf sayısını gösteren besiyerlerinin yanında patojen mayaların varlığının da incelenmesi toplum sağlığı bakımından önemli olduğu düşünülmektedir. İnsanlarda büyük sağlık problemleri oluşturan patojen *Candida spp.*'nin kontamine gıdalar ile de vücuda alınarak hastalık oluşturabilir. Mikrobiyolojik kriterlere uygun gıdalarda bile patojen mayaların özellikle *Candida spp.*'ler bulunabilir. Gıdalarda kromojenik besiyerinin patojen *Candida*

spp.'lerin saptanmasında ve tür identifikasyonun da etkili olduğu, aynı zamanda kısa sürede sonuç verdiği görülmüştür.

Sonuç olarak; gün geçtikçe önemli sorunlar meydana getiren enfeksiyonlar içinde en sık görülen patojen *Candida* spp. türlerinin gıdalarda da tanımlaması, protokoller ve tebliğlerin içerisinde bulunması halk sağlığı açısından faydalı olacaktır.

Kaynaklar

- Anonim, (2012). Tüketime Hazır Etsiz Çiğ Köfte Standardı. TSE K 144. TSE, Ankara.
- Arslan A, Güven A, Saltan S, Patır B, (1992). Elazığ'da tüketime sunulan çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi. FÜ Sağlık Bil Derg. 6, 13.
- Bacteriological Analytical Manuel, (2001). Chapter 18 Yeasts, Molds and Mycotoxins. <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm071435.htm>. Erişim tarihi: 14.04.2017
- Bitar D, Lortholary O, Le Strat Y, Nicolau J, Coignard B, Tattevin P, Che D, Dromer F, (2014). Populationbased analysis of invasive fungal infections, France, 2001-2010. Emerg Infect Dis. 20, 1149-1155.
- Buck JD, (1978). Comparison of an in situ and in vitro survival of *Candida albicans* in seawater. Microb Ecol. 4, 291-302.
- Buck JD, Bubucis PM, (1978). Filter procedure for enumeration of *Candida albicans* in natural waters. Appl Environ Microbiol. 35, 237-242.
- Cerit İ, Deniz G, Yülecı T, Ergün BE, Aygün MG, Karaduman İ, Can C, Demirkol O, (2014). Sakarya İlinde Satışa Sunulan Etsiz Çiğ Köftelerin Fiziko-Kimyasal Özelliklerinin ve Monosodyum Glutamat İçeriğinin Belirlenmesi. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi. 9(3), 10-17.
- Cooper BH, Margarita SH, (1985). Yeast of medical importance. Balows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. eds. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington, DC. p.526-41,
- Çetin O, Bingöl EB, Akkaya H, (2008). The Microbiological, Serological and Parasitological Quality of Cig Kofte (Raw Meatball) and Its Lettuce Marketed in Istanbul. Polish J Environ Stud. 17, 701-706.
- Delikanlı B, Sönmez B, Özdemir Y, (2014). Bursa Merkezinde Tüketime Sunulan Etsiz Çiğ Köftelerin Mikrobiyolojik Kalitesi. Harran Üniv Vet Fak Derg. 3(1), 13-17.
- Dixon DM, Fromtling RA (1995). Morphology, taxonomy, and classification of the fungi. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA. eds. Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. Washington, DC. p.699-708.
- Gieraltowski L, Julian E, Pringle J, Macdonald K, Quilliam D, Marsden-Haug N, (2013). Nationwide outbreak of Salmonella Montevideo infections associated with contaminated imported black and red pepper: warehouse membership cards provide critical clues to identify the source. Epidemiol Infect. 141(6), 1244-52.
- Hampikyan H, Bingöl EB, Colak H, Aydın A, (2009). The evaluation of microbiological profile of some spices used in Turkish meat industry. J Food Agric Environ. 7(3/4), 111-15.
- Koburger JA, Marth EH, (1984). Yeasts and Moulds. Speck ML. ed. Compendium of Methods for the Examination of Foods A.P.H.A. Washington D.C. p.197-202
- Konemann WE, Allen SD, Janda MW, (1997). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. New York: Lippincott, p.983-1069.
- Kölgeliler S, Küçük A, Demir NA, Özçimen S, Demir LS, (2012). Yoğun Bakımlardaki Hastane Enfeksiyonları: Etiyoloji ve Predispozan Faktörler. Kafkas J Med Sci.2(1), 1-5.
- Küplülü Ö, Sarımehtemoglu B, Oral N, (2003). The microbiological quality of çiğ köfte sold in Ankara. Turk J Vet Anim Sci. 27, 325-329.
- Mogha KV, Shah NP, Prajapati JB, Chaudhari AR, (2014). Biofilm - A threat to dairy industry. Indian J Dairy Sci. 67(6).
- Moreira PL, Lourenço TB, Pinto JPAN, Rall VLM, (2009). Microbiological quality of spices marketed in the city of Botucatu, São Paulo, Brazil. J Food Prot. 72(2),421-424.
- Morrison CJ, Hurst SF, Reis E, (2003). Competitive binding inhibition enzyme-linked immunosorbent assay that uses the secreted aspartyl proteinase of *Candida albicans* as antigenic marker for diagnosis of disseminated candidiasis. Clin Diagn Lab Immunol. 10, 835-848.
- Mossela DAA, Kleynen-Semmeling MC, Vincenti HM, (1970). Oxytetracycline-Glucose-Yeast Extract Agar for Selective Enumeration of Moulds and Yeasts in Foods and Clinical Material. J Appl Bad. 33, 454-467.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, (2005). Fungal classification, structure, and replication. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. eds. Medical microbiology, 5th edn. Mosby, Philadelphia, Pennsylvania. p.67-73
- Odds FC, (1988). Candida and Candidosis. A review and bibliography. 2nd ed. London: BailliereTindall.
- Pascual A, (2002). Pathogenesis of catheter-related infections:Lessons for new designs. Clin Microbiol Infect. 8, 256-264.
- Pfaller MA, Diekema DJ, (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev. 20, 133-163.
- Pfaller MA, Houston A, Coffmann S, (1996). Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata* . J Clin Microbiol. 34, 58-60.
- Reisner BS, Woods GL, (1999). Specimen processing. Murray PR. eds. Manual of Clinical Microbiology 7.th edition, ASM Press Washington DC. p.64-104.
- Sagun E, Sancak YC, Durmaz H, Akkaya L, (1997). A study on hygienic quality of raw meat balls consumed in Van. YYU Vet Fac J. 3, 64.

29. Sancak YC, İşleyici Ö, (2006). Çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine bir araştırma. YYÜ Vet Fak Derg. 17, 81-86.
30. Spanamberg A, Ramos JP, Leoncini O, Alves SH, Valente P, (2009). High frequency of potentially pathogenic yeast species in goat's raw milk and creamed cheese in Southern Brazil. Acta Sci Vet. 37, 133-141.
31. Tümbay E, Seeliger HPR, Ang O, eds, (1991) *Candida* and *Candidamycosis*. New York: Plenum Press.
32. Uzunlu S, (2002). Çiğ Köftelerin Mikrobiyolojik Kalitesi ve Farklı Muhafaza Sıcaklık ve Sürelerinde Mikrobiyal Değişimin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
33. Valdes-Collazo L, Schultz AJ, Hazen TC, (1987) Survival of *Candida albicans* in tropical marine and fresh waters. Appl Environ Microbiol. 53(8), 1762-1767.
34. Vural A, Yeşilmen S, (2003). Diyarbakır'da satışa sunulan çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine bir araştırma. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 33, 350-355.
35. Warren NG, Haznen KC, (1999). *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. Murray PR. eds. Manual of Clinical Microbiology 7.th edition, ASM Press, Washington DC. p.1184-1199.