



T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SÜT TOPLAMA TANKLARINDA PATOJEN *Candida* spp. VARLIĞININ  
BELİRLENMESİ**

**Veteriner Hekim Mümine Tuğçe ZENGİN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

HAYVANSAL ÜRÜNLER HİJYEN VE TEKNOLOJİSİ (DİSİPLİNLERARASI)  
ANABİLİM DALI

**Danışman  
Prof. Dr. Özen YURDAKUL**

**BURDUR-2019**

T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜT TOPLAMA TANKLARINDA PATOJEN *Candida* spp. VARLIĞININ  
BELİRLENMESİ

**Mümine Tuğçe ZENGİN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

HAYVANSAL ÜRÜNLER HİJYEN VE TEKNOLOJİSİ (DİSİPLİNLERARASI)  
ANABİLİM DALI

**Danışman**  
**Prof.Dr. Özen YURDAKUL**

Bu araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinatörlüğü tarafından 0485-YL-17 proje numarası ile desteklenmiştir.

**BURDUR-2019**

## KABUL ve ONAY

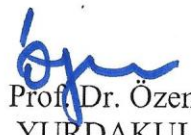
### SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

*Mümine Tuğçe ZENGİN* tarafından *Prof. Dr. Özen YURDAKUL* yönetiminde hazırlanan “*Süt Toplama Tanklarında Patojen Candida spp. Varlığının Belirlenmesi*” başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Hayvansal Ürünler Hijyen ve Teknolojisi Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Sınavı Tarihi 28/08/2019

  
PROF. DR. Zafer GÖNÜLALAN  
Erciyes Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi

Başkan

  
Prof. Dr. Özen  
YURDAKUL  
Burdur MAKÜ Veteriner  
Fakültesi  
Jüri

  
Doç. Dr. Ahmet H.  
DİNÇOĞLU  
Burdur MAKÜ Sağlık  
Bilimler Fakültesi  
Jüri

## ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 27/09/2019 Tarih ve 39 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. M. Doğa TEMİZSOY  
Müdür  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim ve tez dönemim süresince bilgi ve tecrübesiyle bana destek olan danışman hocam Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Özen YURDAKUL'a, tez hazırlık döneminde desteğini esirgemeyen Dr. Erhan KEYVAN'a, Hek. Erdi ŞEN'e, doktora öğrencisi Vet. Hek. Jerina RUGJİ'ye, Vet. Hek. Zeki EROL'a, Dyt. Seher AKÇA' ya, Vet. Hek. Akif UYSAL' a ve Vet. Hek. Menekşe DENİZ' e destekleri için çok teşekkür ederim. Bu süreçte eksikliğini hiçbir zaman esirgemeyen canım anneme, babama, abime, Dolunay ablama ve böceğime sonsuz teşekkür ediyorum.



## ETİK BEYAN

"*Süt Toplama Tanklarında Patojen Candida spp. Varlığının Belirlenmesi*" başlıklı tez çalışmamdaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Özen YURDAKUL danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Mümine Tuğçe ZENGİN

Tarih: 28.08.2019

İmza: 

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                              | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| İÇ KAPAK                                                                                     | i     |
| KABUL ve ONAY                                                                                | ii    |
| TEŞEKKÜR                                                                                     | iii   |
| ETİK BEYAN                                                                                   | iv    |
| İÇİNDEKİLER                                                                                  | v     |
| ŞEKİLLER                                                                                     | vi    |
| TABLolar                                                                                     | vii   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR                                                                      | viii  |
| ÖZET                                                                                         | viii  |
| ABSTRACT                                                                                     | ix    |
| 1. GİRİŞ                                                                                     | 1     |
| 2. GENEL BİLGİLER                                                                            | 3     |
| 2.1. <i>Candida</i> spp. Sınıflandırması ve Genel Özellikleri                                | 3     |
| 2.1.1. Sınıflandırma                                                                         | 3     |
| 2.2. Epidemiyolojisi                                                                         | 7     |
| 2.3. Virülens Faktörler ve Patojenite                                                        | 10    |
| 2.4. İnsan ve Hayvanlardaki <i>Candida</i> spp. Enfeksiyonları                               | 12    |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM                                                                           | 15    |
| 3.1. GEREÇ                                                                                   | 15    |
| 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ile Besiyerleri                                      | 15    |
| 3.2. YÖNTEM                                                                                  | 19    |
| 3.2.1. Örnek Alma ve Örneklerin Analize Hazırlanması                                         | 18    |
| 3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler                                                              | 19    |
| 3.2.3. <i>Candida</i> spp'nin İdentifikasyonu                                                | 19    |
| 3.2.4. Biyokimyasal Testler                                                                  | 20    |
| 3.2.5. DNA İzolasyonu                                                                        | 22    |
| 3.2.6. PCR Testi                                                                             | 22    |
| 3.2.7. İstatiksel Analiz                                                                     | 23    |
| 4. BULGULAR                                                                                  | 24    |
| 4.1. Toplam Maya Sayısı ve <i>Candida</i> spp. Sayısı ile İlgili Bulgular                    | 24    |
| 4.2. <i>Candida</i> Tür Dağılımı ile İlgili Bulgular                                         | 24    |
| 4.2.1. Gram Boyama ve Biyokimyasal Test Bulguları                                            | 25    |
| 4.2.2. Karbonhidrat Fermentasyon Testi                                                       | 25    |
| 4.2.3. Üreaz Testi                                                                           | 26    |
| 4.2.4. Karbonhidrat Asimilasyon Testi                                                        | 26    |
| 4.2.5. Germ Tüp Testi ve Klamidospor Testi                                                   | 29    |
| 4.2.6. Patojen <i>Candida</i> spp. İzolatların DNA İzolasyonu ve PCR Tayini ile Doğrulanması | 30    |
| 5. TARTIŞMA                                                                                  | 32    |
| 6. SONUÇ ve ÖNERİLER                                                                         | 36    |
| KAYNAKLAR                                                                                    | 37    |
| ÖZGEÇMİŞ                                                                                     | 47    |

## ŞEKİLLER

|            |                                                                                                     |    |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. | <i>Candida albicans</i> 'ın farklı morfolojik büyüme formları                                       | 5  |
| Şekil 2.2. | <i>Candida</i> türünün mısır unu Tween 80'deki makroskopik kolonileri ve SDA'daki mikroskopi yapısı | 6  |
| Şekil 2.3. | <i>C.albicans</i> 'da ara, uç ve yan klamidosporeler                                                | 7  |
| Şekil 3.1. | Gene Max Tc-S-B Gene Max PCR cihazı                                                                 | 23 |
| Şekil 4.1. | <i>Candida</i> CHOROMagar besiyerindeki renk oluşumları                                             | 24 |
| Şekil 4.2. | <i>Candida spp.</i> 'nin gram boyama görünümü                                                       | 25 |
| Şekil 4.3. | Karbonhidrat fermentasyon testi pozitif ve negatif tüpler                                           | 25 |
| Şekil 4.4. | Karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları                                                           | 26 |
| Şekil 4.5. | Üreaz testi görünümü                                                                                | 26 |
| Şekil 4.6. | Karbonhidrat asimilasyon testi pozitif ve negatif Suşlar                                            | 27 |
| Şekil 4.7. | PCR yönteminde <i>C. tropicalis</i> pozitif örneklerin görünümü                                     | 32 |

## TABLÖLAR

|                   |                                                                                                         |           |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tablo 2.1.</b> | <i>Candida spp.</i> 'lerin genel sınıflandırılması                                                      | <b>3</b>  |
| <b>Tablo 2.2.</b> | <i>C. albicans</i> 'ın başlıca virülans özellikleri                                                     | <b>12</b> |
| <b>Tablo 3.1.</b> | Çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanım alanları                                                      | <b>18</b> |
| <b>Tablo 3.2.</b> | <i>Candida</i> CHROMagar besi yerinde <i>Candida</i> türlerinin renkleri                                | <b>19</b> |
| <b>Tablo 3.3.</b> | <i>Candida</i> türleri arasında germ tüp pozitif ve negatif suşlar                                      | <b>20</b> |
| <b>Tablo 3.4.</b> | Klamidospor pozitif suşlar                                                                              | <b>20</b> |
| <b>Tablo 3.5.</b> | Karbonhidrat fermantasyon testi                                                                         | <b>21</b> |
| <b>Tablo 4.1.</b> | Maya-küf ortalaması ( kob/ml)                                                                           | <b>24</b> |
| <b>Tablo 4.2.</b> | Karbonhidrat asimilasyon testi sonuçları                                                                | <b>27</b> |
| <b>Tablo 4.3.</b> | Glikozu fermente eden <i>Candida</i> suşlarının karbonhidrat asimilasyon test sonuçları ve tür dağılımı | <b>28</b> |
| <b>Tablo.4.4.</b> | Klamidospor ve germ tüp testi                                                                           | <b>29</b> |
| <b>Tablo 4.5.</b> | PCR çalışmasında kullanılan primer dizileri                                                             | <b>31</b> |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|             |                                     |
|-------------|-------------------------------------|
| <b>ABD</b>  | Amerika Birleşik Devletleri         |
| <b>AIDS</b> | Acquired immune deficiency syndrome |
| <b>Als</b>  | Aglütinin benzeri sekans            |
| <b>ALS</b>  | Aglütinin benzeri sekans            |
| <b>bp</b>   | Baz çifti                           |
| <b>cm</b>   | Santimetre                          |
| <b>°C</b>   | Santigrat derece                    |
| <b>EHEC</b> | Enterohemorajik E. coli             |
| <b>FDA</b>  | Food and Drug Administration        |
| <b>gr</b>   | Gram                                |
| <b>HIV</b>  | Human immunodeficiency virüs        |
| <b>Hwp</b>  | Hiphal hücre duvarı proteini        |
| <b>Int</b>  | İntegrin benzeri protein.           |
| <b>Lip</b>  | Lipazlar                            |
| <b>PDA</b>  | Patates dekstroze agar              |
| <b>PL</b>   | Fosfolipaz                          |
| <b>Plb</b>  | Fosfolipaz B                        |
| <b>Sap</b>  | Salgılanan aspartil proteinaz       |
| <b>SDB</b>  | Sabourraud Dekstroze Broth          |
| <b>vb</b>   | Ve benzeri                          |
| <b>µl</b>   | Mikrolitre                          |
| <b>µM</b>   | Mikrometre                          |
| <b>%</b>    | Yüzde                               |

## ÖZET

### Süt Toplama Tanklarında Patojen *Candida* spp. Varlığının Belirlenmesi

Bu çalışma süt toplama tanklarında patojen *Candida* spp'nin varlığının incelenmesi ve PCR ile doğrulanmasının yapılmasını sağlamak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla süt toplama tanklarından alınan toplam 100 adet süt örneğine karbonhidrat fermentasyon, karbonhidrat asimilasyon testi, üreaz testi, germ tüp ve klamidospore testleri yapılarak 51 süt örneğinde *Candida* spp. saptanmıştır. Tür ayırımına gidilmesi sonucunda 15 süt örneğine ait izolatların *C. tropicalis* olduğu bulunmuştur. PCR tekniği ile yapılan doğrulama sonucunda 15'inde *C.tropicalis* olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak patojen candida türü olan *C.tropicalis* çiğ sütlerde varlığı hem süt sektörü hem de halk sağlığı açısından risk oluşturduğu bildirilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Süt, Patojen *Candida* spp, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*

## ABSTRACT

### Determination of Pathogen *Candida* spp. Bulk Tank Milk Samples

This study was conducted to confirm the presence of pathogen *Candida* spp. in the milk collected from milk tanks with the use of Polymerase Chain Reaction (PCR). For this purpose, carbohydrate fermentation, carbohydrate assimilation test, urease test, germ tube and chlamidyaspor tests were performed on 100 milk samples taken from milk tanks. Performed tests showed that in 51 milk samples *Candida* spp. was determined. As a result of species separation, 15 samples were found to be *C. tropicalis*. Furthermore verification of the 15 samples was done with the use of PCR technique. As a result, it can be concluded that the presence of *C. tropicalis* in raw milk, a pathogen belonging to *Candida* species, poses a risk for both the milk sector and public health.

**Key Words** Milk, Pathogen *Candida* spp, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*

## 1. GİRİŞ

Süt, insan beslenmesinde yaşam için gerekli tüm besin maddelerini yeterli ve dengeli bir şekilde içermelerinden dolayı oldukça önemli bir besin kaynağıdır (Tekinşen ve Nizamlioğlu, 2001). Çiğ süt, sağım şekli ve hijyen uygulamalarına bağlı olarak çeşitli mikroorganizmaları içermektedir (Deak ve Beuchat, 1996). Sütte meydana gelen mikrobiyal kontaminasyonlarda başta mastitis olmak üzere personel, sağım hijyeni ve süt toplama tankları temizliğinin yetersizliğine bağlı olarak şekillenmektedir (Homan ve Wattiaux, 1995). Bu yollarla bulaşan bakteri, maya ve küfler halk sağlığı açısından risk oluşturmakla birlikte süt işletmelerinde ekonomik zarara yol açmaktadırlar (Santoz, 2005). Hayvancılıkta sağlıklı süt üretiminde yetiştiricilerin önemli ekonomik kayıplara neden olan en büyük sorunu mastitis hastalığı neden olmaktadır. Mastitis olgularında daha çok bakteriyel hastalıklar irdelenmektedir. Bununla birlikte mastitis olgularında *Trichosporon capitatum*, *Candida albicans* gibi patojen mayalar da sıklıkla rastlanmaktadır. (Özyurtlu N 2011). Moretti ve ark. (1998), mastitisli ineklerden aldıkları süt örneklerinin %4.9'unda maya tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada izole ettikleri mayaların tür idendifikasyonu sonucun da *Trichosporon capitatum* (%31.2), *T.beigelii* (%18.72), *C. albicans* (%12.48), *C. guillermundii* (%12.48), *C. tropicalis* (%12.48) türlerini tespit etmişlerdir.

Süt hemen işlenmesi durumunda soğuk muhafaza koşullarında toplanması gerekmektedir. Süt toplama tankları sayesinde mevcut mikroorganizma sayısı artışı kontrol altına alınmaktadır. Süt toplama tankları birçok hayvanın sütünün toplandığı ilk ekipman olması nedeniyle çok önemli bir cihazdır. Ancak süt içerisinde bulunan mikroorganizmaların sayısı bu koşullarda bile artabilmektedir (Erdem ve Atasever, 2004). Süt toplama tanklarının hijyen yetersizliği nedeniyle de kontaminasyon meydana gelebilmektedir. Torkar ve Teger (2008), tarafından süt toplama tanklarında yapılan bir çalışmada; 203 süt toplama tankından aldıkları örnekler toplam maya-küf sayısının 2.3 log<sub>10</sub> kob/ml bulmuşlardır.

İşlemeye getirilen çiğ sütler üzerinde gerçekleştirilen mikrobiyolojik analizlerde tankerden alınan örneklerde toplam küf maya miktarı 7,591 log kob/ml, bulmuşlardır. Alisharlı ve ark. (2003), çiğ sütte küf-maya sayısını 0,14 log kob/ml, Yeni

Ayvaz ve Oysun (2003), ise 5,43 log kob/ml olarak belirlemiştir. Depolama süresince maya-küf sayısında önemli bir değişiklik görülmemiştir. Az sayıda da olsa bekletme esnasında maya ve küf sayısı artış göstermiştir (Donlan ve ark., 2002).

Burdur ilinde üretilen çiğ süt toplama merkezlerine ait depolama tanklarında *Candida* spp. varlığı üzerine herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmanın temel amacı;

- Süt toplama tanklarında patojen *Candida* türlerini saptamak
- PCR yöntemi ile tür dağılımını belirlemek
- Süt toplama tanklarından tespit edilen mikroorganizmaların aynı zamanda klinik ve subklinik mastitis arasında sıkı bir ilişki bulunduğu için var olan sorunların çözümü, süt kalitesine etkisi ve yol açabileceği teknolojik sorunlarını incelemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Candida* spp. Sınıflandırması ve Genel Özellikleri

#### 2.1.1. Sınıflandırma

Mantarların varlığının tanınması M.Ö 1200'lü yıllara kadar uzanmaktadır. Vedaş (M.Ö 1200); o yıllarda bitkiler üzerinde mantarların ürediğini ve zararlı etkilerinin olduğunu belirtmektedir. Mantarlar, bitkilerde olduğu gibi; insan ve hayvanlarda da birçok hastalığa neden olmaktadır. Mantarlar kök, gövde, yaprak ve klorofile sahip olmayan basit yapıda mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Yaygın olarak bulunan mantarlar özellikle saprofit özellikte olması nedeniyle cansız ortamda da uzun süre hayatta kalmaktadırlar. Mantarların tanımlanmasında morfolojisi (miselyum yapısı ve durumu, spor ve sporangiumun şekli yapısı), türü, üreme karakteri (seksüel, aseksüel) ve diğer biyokimyasal antijenik yapıları göz önüne alınarak yapılmaktadır (Arda, 2015). Mantarların sınıflandırılmasında tıbbi olarak önemli olan ana grupları; *Zygomycetes*, *Basidiomycetes* ve *Deuteromycetes* olarak adlandırılmaktadır. Eşeyli üreme özelliği gösterenler *Hemiascomycetes* sınıfında bulunmakta olup, eşeysiz üreme özelliği gösterenler *Deuteromycetes* sınıfında yer almaktadırlar. *Candida* spp.'ler *Deuteromycetes* sınıfında bulunmaktadırlar. Eşeyli ve eşeysiz üremelerine bakılarak sınıflandırılması yapılmaktadır (Quinn ve ark., 2011).

**Tablo 2.1.** *Candida* spp.'lerin genel sınıflandırılması

| Bölümleri    | Alt başlıklar          | Örnekleri              |
|--------------|------------------------|------------------------|
| Alem         | <i>Protista</i>        |                        |
| Divizyon     | <i>Mycota</i>          |                        |
| Alt Divizyon | <i>Myxomycotina</i>    |                        |
| Sınıf        | <i>Zygomuceta</i>      | <i>Mukor, Rhizopus</i> |
|              | <i>Ascomyceta</i>      | <i>Saccharomyces</i>   |
|              | <i>Archiascomycota</i> | <i>Pneumocystis</i>    |
|              | <i>Basidiomyceta</i>   | <i>Cryptococcus</i>    |
|              | <i>Deuteromyceta</i>   | <i>Candida</i>         |

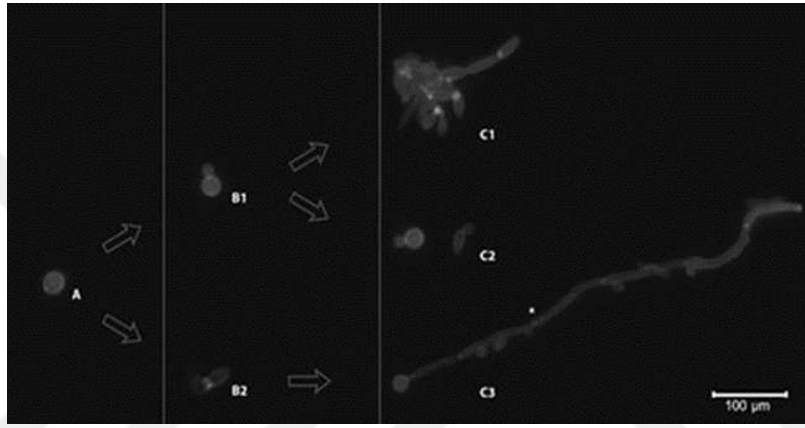
### 2.1.2. Genel Özellikleri

*Candida* türleri ince duvarlı, oval, kapsülsüz, Gram-pozitif, 4-6 µm boyutlarında olup, fakültatif anaerob ortamlarda üreyebilmektedirler (Koneman ve ark., 1997). *Candida* türleri eşeyli ve/veya eşeysiz üreme özelliğine sahip ökaryot hücreler olup hücre duvarı bulunmalarından dolayı diğer ökaryotlardan ayrılmaktadırlar (Larone DH, 1998). *Candida* spp. multilateral tomurcuklanma (blastospor) ve ikiye bölünme ile aseksüel olarak çoğalmaktadırlar (Quinn ve ark., 2011). Tomurcuklanma ile meydana gelen yavru hücre (blastokonidyum) ana hücrenin yapısal olarak aynısı olup, ana hücreden ayrılabilir. Ancak yavru hücre ana hücreden ayrılmadan yaşam döngüsüne devam ederse arka arkaya uzayarak yalancı hif (yalancı hif) oluşturmaktadırlar (Larone DH, 1998; İnci R 1999; Tümbay E,1999).

*Candida* spp. çoğunluğu yalancı hif oluştururken sadece *C.albicans*, *C.dubliniensis* *C.norvegensis* türleri gerçek hif oluşturma yetenekleri bulunmaktadır (Kwon-Chung ve ark., 1979; Yücel ve ark 1999). Gerçek hif oluşturan *Candida* türleri hücre duvarları birbirine paralel ve hif ucunda veya aralarında konidiosporlar oluşturmaktadır (Yıldız, 2008).

Hif ve yalancı hif oluşma şekilleri açısından birbirinden ayrılmaktadır. Yalancı hif, tomurcuklanma yoluyla maya hücrelerinden veya hifden oluşmaktadır. Ancak yeni büyüme, hücre-hücre birleşme noktalarında daralma ile filamentlerle sonuçlanan ana hücreye ve uzamaya bağlı kalmaktadır. Yalancı hif ile ilişkili iç çapraz duvar (septa) mevcut değildir (Şekil 2.1). Buna karşılık, gerçek hifler maya hücrelerinden veya mevcut hifin dalları olarak oluşmaktadır. Gerçek hiflerin gelişimi; hifleri ayrı mantar ünitelerine bölen tanımlanmış septa ile uzayan ve sonra dallanan bir germ tüp oluşturmaktadır (Şekil 2.1) (Silva ve ark., 2012). Germ tüpü, blastoconidiumdan kaynaklanan ve çıkış noktalarında herhangi bir kısıtlama olmadan paralel duvarlara sahip olan filamentli bir büyüme göstermektedir (Deorukhkar ve ark., 2012). Germ tüpünü yalancı hiften ayırt etmede önem taşımaktadır. Germ tüpünün aksine, yalancı hifalar blastoconidium'dan çıkma noktasında daralma görülmektedir (Pincus ve ark., 2007). *Candida* spp. izolatlarının türlerinin tanımlanması için temel mikolojik çalışma, serum veya diğer proteinli ortamda germ tüpü üretme yeteneğinin oluşması ile

başlamaktadır. *Candida* türleri arasında *C. albicans* ve *C. dubliniensis*, *C.stellaoide* germ tüpü pozitifdir. *C.albicans* ve *C.stellaoide* süktroz asimilasyon testi ile birbirinden ayrılmaktadır. *C. albicans* ve *C.dubliniensis* ise PCR ile birbirinden ayrılmaktadır (Aytıp, 2012). İnsan serumu geleneksel olarak germ tüpü testi için kullanılmasına rağmen, birçok laboratuvar insan serumu kullanımıyla ilişkili doğal güvenlik problemleri nedeniyle yumurta akı, tükürük, koyun serumu, pepton suyu ve triptikaz soya suyu gibi alternatif proteinli ortamlar kullanmaktadır. Triptikaz soya et suyunun germ tüpü üretimi için en etkili ortam olduğu bulunmuştur (Deorukhkar ve ark., 2012).



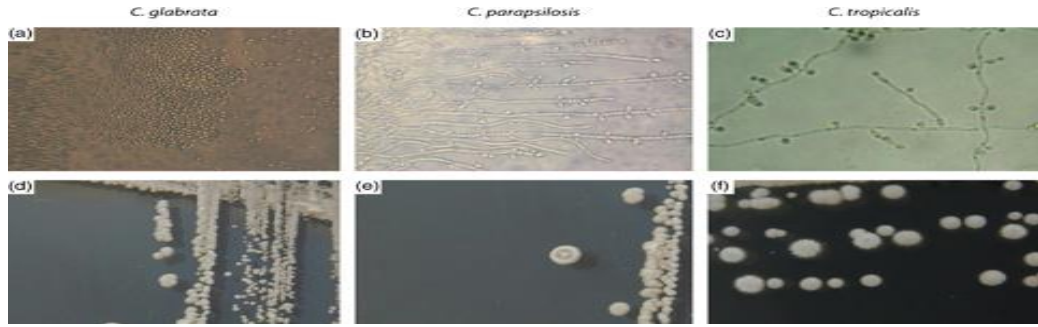
**Şekil 2.1.** *Candida albicans*'ın farklı morfolojik büyüme formları. Kalkoflor beyazı ile boyanmış *Candida albicans*'ın farklı morfolojik büyüme formlarının epifloresan fotopozisyonu: (A) blastoconidia; (B1) tomurcuklanan üreme; (B2) germ tüpü oluşumu; (C1) psödohipa oluşumu; (C2) maya formu; (C3) hipha oluşumu. \* İç duvarlar (septa) (Silva ve ark., 2012).

*C. albicans* ve *C. dubliniensis*, hif veya yalancı hif oluşturma yeteneklerinden dolayı polimorfiktir ve bu türlere ayrıca tanısal bir özellik olan germ tüpü pozitif olarak da atıfta bulunulur (Calderone, 2002). Buna karşılık, *C. glabrata* polimorfik değildir, sadece blastoconidia (maya) olarak büyür fakat insan enfeksiyonu ile ilişkisi nedeniyle *Candida* spp. cinsinde sınıflandırılmaktadır (Fidel ve ark., 1999). *C. albicans* ve *C. dubliniensis*'in ortak belirgin özelliklerinden biri klamidospor üretebilmeleridir. Mısır unu-tween 80 agara ekilen *C. albicans* ve *C. dubliniensis* bu besi yerinde klamidospor oluşturmaktadır (Odds, 1988). Klamidosporlar, hiflere ve bazen yalancı hiflere bağlı uzun süspansiyon hücrelerinin uçlarında oluşan, kalın hücre duvarlarına sahip, büyük hücreler olup mısır unu-tween 80 agar gibi besince fakir ortamlarda maya hücreleri besin depolayan klamidosporlar oluşturmaktadır (Calderone, 2002). Hiflerin içinde,

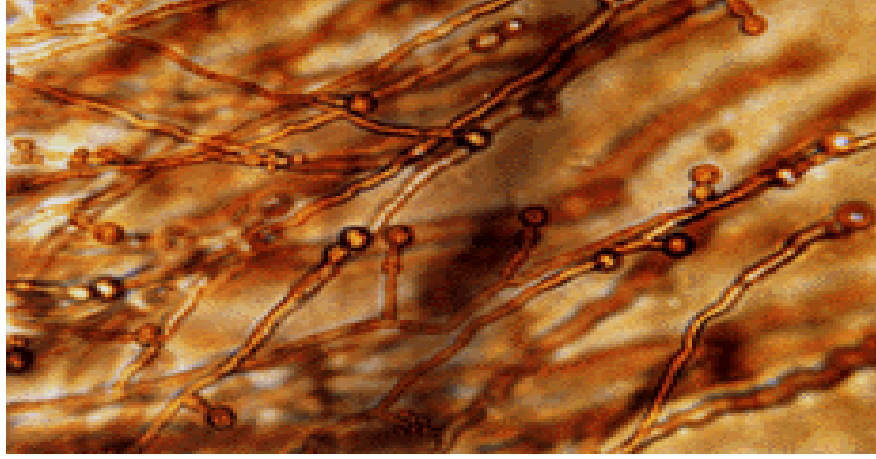
kenarında veya ucunda gelişebilen, büyük, yuvarlak ve kalın duvarlı bu yapılar, olumsuz şartlara karşı *Candida* türlerinin canlılığını korumasını sağlamaktadır (Yücel ve ark., 2000).

*C. tropicalis*'in ilk ayrıldıkları sırada klamidosporlar oluştururlar ve klamidosporların biçimi gözyaşı damlası görünümüne benzemektedir (Yücel, 1987). Mısır unu Tween 80 agar ve 72 saat sonra 25 °C'de *C. tropicalis* oval blastosporlar, bazı raporlara bağlı olarak yalancı hif, gerçek hif üretmektedir (Calderone, 2002; Larone, 2002; Yoshio ve Kouji, 2006).

*C. stelladoidea*'da bazen klamidospor oluşmakta ve antijen yapıları bakımından *C. albicans*'ın B tipi ile benzerlik gösterdiği için karıştırılabilmektedir (Yücel, 1999). *C. glabrata*'da blastokonidyalar bulunur fakat yalancı hif oluşumu görülmemektedir. *C. krusei*'de ise ağaç benzeri görünüm veren uzun blastokonidyalar ile yalancı hif oluşumu gözlemlenmektedir. *C. parapsilosis* ile ilgili olarak, bu tür gerçek hifayı üretmez, ancak karakteristik olarak büyük ve kavisli olan 'dev hücreler' olarak adlandırılan psödohip üretebilir (Larone, 2002; Trofa ve ark., 2008).



**Şekil 2.2.** *Candida* türünün mısır unu Tween 80'deki makroskopik kolonileri ve SDA'daki mikroskopi yapısı. Mikroskobik yapılar: (a) *Candida glabrata*; (b) *Candida parapsilozu*; (c) *Candida tropicalis*; makroskopik koloniler: (d) *C. glabrata*; (e) *C. parapsiloz*; (f) *C. Tropicalis* (Silva ve ark., 2012).



**Şekil 2.3.** *C.albicans*'da ara, uç ve yan klamidosporlar (Yücel A ve ark., 1999)

*Candida* türlerinin konakçıya veya tıbbi cihazlara ilk bağlanmasını, hücre bölünmesi, çoğalması ve ardından biyofilm gelişimi takip etmektedir (Ramage ve ark., 2006). Ayrıca, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* izolatlarının oluşturduğu biyofilmler; biyofilm oluşturamayan izolatlarla karşılaştırıldığında daha yüksek morbidite ve mortalite oranları ile ilişkilendirilmektedir (Kumamoto, 2002). Yeni tanımlanmış olan iki *Candida* türü olan *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis*'inde biyofilm oluşturabildiği bildirilmiştir (Silva ve ark., 2012).

## 2.2. Epidemiyolojisi

*Candida* spp. türleri hayvanların ve insanların cilt ve mukozal yüzeylerinde kolonize olmakla beraber memelilerden başka doğada; bitkilerde, toprak ve suda da bulunabilmektedirler (Pappas, 2006). Türlerin bulunma yerlerine göre;

*C. parapsilosis* insan derisinin normal biotasında ve dış kulakta, ayrıca su, salatalık, çay, bira, zeytin, meyve suları gibi çeşitli kaynaklarda da bulunabilmektedir (Yücel, 1999). *C. tropicalis* ağız çevresi, tırnak, bağırsak, deri ve dış kulakta bunun dışında ekmek mayası, su, meyve, organik maddelerce zengin topraklarda bulunabilmektedir. *C.glabrata* ağız florası yanında bağırsak, su ve toprakta bulunurken, *C. guilliermondii* deride ve *C. krusei* su, toprak bitkilerde bulunabilmektedir (Yeğenoğlu, 2002).

Günümüzde 200'den fazla *Candida* türü bulunmasına rağmen insanlarda hastalık oluşturan patojen *Candida* türleri; *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*'dır. Ayrıca son yıllarda insanda *C. kefyr*, *C. lusitaniae* ve *C. dubliniensis*'inde hastalık yapabildiği gözlemlenmektedir (Koneman ve ark., 1997). Türkiye'de yapılan bir çalışmada; nozokomiyal fungal enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *Candida* türlerinin dağılımları sırasıyla, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* olduğunu ortaya koymaktadırlar (Hilmioğlu ve İnci, 2000). Amerika ve Avrupa'da ise hastane enfeksiyonların da 4. sırada yer almakta olup en patojen tür *C. albicans*'tır (Bassetti ve ark., 2006). *C. albicans* serotipleri arasında GDH18, GDH3339, CA1957, ATCC 28366 ve ATCC 10321 suşları daha virülanstır (Aydın, 2004).

*Candida* spp. enfeksiyonları; immünsüpresif ilaçların terapötik uygulamaları, geniş spektrumlu antibiyotiklerin çeşitli klinik durumlarda kullanımı, diğer predispoze faktörler ve immün sistemi baskılanmış hastalarda fırsatçı enfeksiyonlar olarak ortaya çıkmaktadır (Nissapatorn ve ark., 2003). *Candida* spp. enfeksiyonları, AIDS hastalarında en yaygın mantar enfeksiyonlarını da oluşturmaktadır (Singh ve ark., 2003). Bu hastalar ağırlıklı olarak yetersiz beslenmeye yol açabilen ve ilacın emilimini engelleyebilen orofarengeal kandidiyazis geliştirmektedir. Bu hastalarda profilaksi için antifungallerin yaygın kullanımı, patojen *Candida* türlerinin kolonileşmesinin ve antifungal ilaçlara karşı artan direncin başlıca nedeni olmaktadır (Hsueh ve ark., 2005).

Avrupa ülkelerinde, immunsüpresif vakalarının yarısından fazlasına *C. albicans* neden olurken, diğer türlerin oluşturduğu enfeksiyonların görülme oranları; %14 *C. glabrata*, %7 *C. parapsilosis*, %2 *C. tropicalis* ve %2'nin *C. krusei* olduğu bildirilmektedir (Tortorano ve ark., 2006). Latin Amerika ülkelerinden Şili'deki epidemiyolojik değişiklikler gözlenmekte ve en sık görülen türler; *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* olduğu bildirilmektedir (Ajenjo ve ark., 2011). Brezilya da ise kandidiyazis olgularında %40.9'u *C. albicans*, %20.9'u *C. tropicalis*, %20.5'i *C. parapsilosis* ve %4.9'u *C. glabrata* olduğu bildirilmektedir (Colombo ve ark., 2006; Nucci ve ark., 2010).

*C. albicans*, yüksek ölüm oranları, hastanede kalış sürelerinin uzaması nedeniyle artan tıbbi ve ekonomik öneme sahip ciddi bir halk sağlığı sorunu olmaktadır (Almirante ve ark., 2005; Lai ve ark., 2012). *C. albicans*, invaziv mantar enfeksiyonlarında en yaygın türler olmasına rağmen, *C. albicans* olmayan türlerin de baskın bir şekilde bulunduğu gözlemlenmiştir (Asmundsdottir ve ark., 2002). *C. parapsilosis*, genellikle invazif prosedürlerle veya protez cihazlarıyla ilişkili endoftalmitis, endokardit, septik artrit, peritonit ve fungemiye içeren klinik belirtilerle ve kuzeydeki yeni doğan enfeksiyonları ile önemli bir hastane dışı patojen olarak ortaya çıkmaktadır (Cantón ve ark., 2011). *C. tropicalis* kaynaklı kandidaemi, özellikle lösemi veya nötropenili hastalarda kanser ile ilişkilendirilmiştir (Colombo ve ark., 2007). *C. glabrata'* ya bağlı kandidaeminin flukonazol kullanımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Nucci ve ark., 2010).

*C. guilliermondii* ve *C. rugosa* kandidiyazis olgularında görülmezken son yıllarda sıklıkla hastalık oluşturmaktadır (Pfaller ve ark., 2009; Nucci ve ark., 2010). *C. rugosa* (% 1,1) diyabetik hastaların ağız boşluğunda tanımlanmıştır (Pires-Gonçalves ve ark., 2007). *C. tropicalis*, flukonazole karşı *C. albicans'tan* daha az hassastır. *C. glabrata* antifungal ajanlara, özellikle flukonazole karşı doğal olarak daha dirençlidir. *C. krusei'*de nötropenik hastalarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden enfeksiyonlara yol açmaktadır (Pemán ve ark., 2006; Pfaller ve ark., 2008). *C. krusei*, flukonazole karşı yapısal olarak dirençlidir ve bu türlerin neden olduğu enfeksiyonlar, önceki flukonazol profilaksisi ve nötropeni ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Cruciani ve Serpelloni, 2008).

*Candida* türlerinin insidansları coğrafi bölgelere göre de büyük ölçüde değişmektedir. *C. glabrata* Asya-Pasifik ve Avrupa Birliği'nde (AB) en yüksek düzeyde iken, Afrika ve Orta Doğu'da *C. tropicalis* enfeksiyonu görülme sıklığı AB'nin üç katına yaklaşmaktadır. *C. parapsilosis* ise Kuzey Amerika ve Latin Amerika'da görülme oranı en yüksek olan türdür. Özellikle *C. glabrata'daki* artış, yaygın olarak kullanılan azol türevi olan flukonazole duyarlılığın azalması ile ilişkilidir. *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* dışındaki yeni görülen *Candida* türlerinin hastalık yapma nedeni de özellikle antifungal ilaçlara direnç gelişimine

bağlanmaktadır (Alexander ve ark., 2013; Chapeland-Leclerc ve ark., 2010; Pfaller ve ark., 2008).

### 2.3. Virülens Faktörler ve Patojenite

*Candida* spp.'nin neden olduğu enfeksiyonlar kandidiyazis veya kandidoz olarak adlandırılmaktadır (Colombo ve Guimarães, 2003). Virülans faktörleri, mikroorganizmaların konak savunma sistemleri tarafından yok edilmelerini önlemek için oluşturdukları mikrobiyal ürünlerdir (Çerikcioğlu, 2012). *Candida* türlerinin konakçı dokularında patojenitesini sağlayan en önemli faktörlerin başında; biyofilm oluşumu ve hidrolitik enzimlerin salgılanması (örn. Proteazlar, fosfolipazlar ve hemolizinler) gibi virülans faktörler rol oynamaktadır (Nicholls ve ark., 2011). Maya ve hifal formlar arasındaki morfolojik geçiş, hücre yüzeyindeki adezinler ve invazinin ekspresyonu, tigtropizm, biyofilm oluşumu, fenotipik anahtarlama ve hidrolitik enzimlerin salgılanması gibi bir takım özellikler virülans faktörleri olarak kabul edilmektedir. Bu virülans faktörler hastalık sürecinin patofizyolojisine aktif olarak katılmaktadırlar (Tamura ve ark., 2007). Bunlara ek olarak, çevresel pH'daki dalgalanmalara hızlı adaptasyon, metabolik esneklik, güçlü besin kazanma sistemleri ve sağlam stres yanıtlama mekanizmalarını içermektedir (Nicholls ve ark., 2011).

İnsan ve hayvan dokularında mantar kolonizasyonunda birincil faktör; konak yüzeylerine tutunabilmesidir. Bu işlem hem mantar hem de çevresindeki birkaç hücrenin sinyal merkezleri tarafından kontrol edilmekte ve uyarılmaktadır.

*Candida* hücrelerinin ilk bağlanmasına spesifik olmayan faktörler (hidrofobiklik ve elektrostatik kuvvetler) aracılık eder ve proteinler, fibrinojen ve fibronektin gibi ligandları tanıyan mantar hücrelerinin yüzeyinde mevcut olan spesifik adezinler tarafından teşvik edilmektedir (Li ve ark., 2003). *Candida* türlerinin hücre yüzeyine tutunmasını adhezin adı verilen özel yüzey proteinleri sağlamaktadır. Bu proteinler; hücrelerin yüzeyindeki amino asitlere ve şekerlere spesifik olarak bağlanabilmekte veya abiyotik yüzeylere yapışmayı sağlayabilmektedirler (Darouiche ve Kojiç 2004; Verstreppe ve Klis, 2006).

Biyofilmler, hücre dışı bir matriks içine gömülü, yüzeyle ilişkili mikroorganizma toplulukları olarak tanımlanmaktadır (Al-Fattani ve Douglas, 2006; Silva ve ark., 2009a). Biyofilm yapısında farklı oranlarda karbonhidrat ve proteinler bulunmaktadır (Silva ve ark., 2009; Baillie ve Douglas, 1999). Biyofilm oluşumu, bazı *Candida* türler için önemli bir virülans faktörüdür, çünkü maddelerin matriksin içine nüfuzunu sınırlandırarak ve hücreleri konakçı immün tepkilerinden koruyarak antifungal tedaviye karşı önemli bir direnç sağlamaktadır (Donlan ve Costerton, 2002; Mukherjee ve Chandra, 2004).

Hücre dışı hidrolitik enzimlerin; yapışmada, doku penetrasyonunda, istila ve konakçı dokuların yok edilmesinde önemli bir rol oynadığı görülmektedir (Silva ve ark., 2011b). En önemli hidrolitik enzimler proteazlar ve fosfolipazlardır. *C. albicans*'ın proteinaz aktivitesinden sorumlu olan 10 adet aspartik proteinaz (*Sap*) izoenzimi bulunmakta ve *Sap1-10* genleri bu proteinleri kodlamaktadır. *Sap1 – 6* genlerinin rolü, yapışma, doku hasarı ve immün cevaptaki değişikliklerle ilgili olduğu bildirilmektedir. *Sap 9* ve *Sap 10*'un salgılanan proteinazlar olmadığını; bunun yerine, maya hücrelerinin yüzey bütünlüğünün korunmasında kullanıldığı belirtilmektedir (Naglik ve ark., 2003). *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii* türlerinde de *Sap* proteinlerinin bulunduğu saptanmıştır (Zaugg ve ark., 2001).

Mikrobiyal hücre dışı lipazlar; besin kazanımı için lipidlerin sindirilmesini, konakçı hücrelere ve dokulara yapışmayı sağlamaktadır. Ayrıca lipazların görevleri arasında bağışıklık hücrelerini etkileyerek, enflamatuvar işlemlerin spesifik olmayan şekilde başlatılmasını ve rekabet eden mikrobiyotayı parçalayarak kendini savunmayı içermektedir (Gácsér ve ark., 2007; Stehr ve ark., 2000).

*Candida* türlerinin en önemli virülens faktörlerinden birisi hemolizin üretmesidir. İnorganik bir element olan demir; maya da dahil olmak üzere mikroorganizmaların gelişimi için elzemdir ve bu elementi elde etme kabiliyeti patojenitenin oluşturulması için gerekmektedir (Manns ve ark., 1994; Vaughn ve Weinberg, 1978).

Yedi fosfolipaz geni ( *PLA*, *PLB1*, *PLB2*, *PLC1*, *PLC2*, *PLC3* ve *PLD1* ) tanımlanmaktadır (Samaranayake ve ark., 2006). Bunlardan *PLB1*’in virülans rolü olduğu belirtilmektedir. *Plb1p*, doku invazyonu sırasında hifal uçlarda bulunmakta olup hidrolaz ve lizofosfolipaz-transasilaz aktivitesine sahip olan bir glikoprotein olarak tanımlanmaktadır (Ghannoum, 2000). Diğer bir virülans mekanizması olan hifanın büyümesi, doku istilasında ve fagositoza dirençte önemli bir rol oynamaktadır (Jayatilake ve ark., 2006).

**Tablo 2.2.** *C. albicans*’ın başlıca virülans özellikleri (Naglik ve ark., 2003)

| Virülans özelliği                                                              | Varsayılan virülans rolleri                               |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Adhesinler (örneğin, Als ailesi, Hwp1, Int1) <sup>a</sup>                      | Yapışma ve kolonizasyon                                   |
| Hif üretimi                                                                    | Yapışma, istila, doku hasarı                              |
| Hücre dışı hidrolitik enzimler (örneğin, Sap, Plb ve Lip aileler) <sup>b</sup> | Besin alımı, istila, doku hasarı, konukçu tepkisi kaçırma |
| Fenotipik anahtarlama                                                          | Yapışma, konukçu tepkisi kaçırma                          |

<sup>a</sup>Als, aglütinin benzeri sekans; Hwp1, hifal hücre duvarı proteini 1; Int1, integrin benzeri protein. <sup>b</sup> Sap, salgılanan aspartil proteinazları 1 ile 10; Plb, fosfolipaz B1 ve B2; Lip, Lipazlar 1-10.

#### 2.4. İnsan ve Hayvanlardaki *Candida* spp. Enfeksiyonları

*C. albicans*: Gastrointestinal sistemde, vajen ve ağız boşluğunun normal biotasında bulunmaktadır. Virülansı en yüksek tür olup A ve B serotipleri bulunmaktadır. Serotip A flusitozine duyarlı iken serotip B dirençli olmaktadır (Alparslan, 2007).

*C.tropicalis*: *C. albicans*’dan sonra en sık karşılaşılan fırsatçı patojen türü olarak görülmektedir. Endojen enfeksiyonlarda personelden kaynaklı fungemi olguları bildirilmektedir. En fazla orofarenksten izole edilmektedir (Turner ve Butler, 2014).

*C.krusei*: *C. krusei*’nin flukonazole doğal dirençli olması ve *C. krusei* enfeksiyonların da amfoterisin B’nin de bazı olgularda yetersiz kalabilmesi gibi nedenlerden dolayı, bu enfeksiyonların tedavisi ile ilgili önemli sorunlar ortaya çıkmaktadır (Pemán J ve ark., 2006; Pfaller ve ark., 2008). Süt bebeklerinde diyareye neden olmaktadır (Turner ve Butler, 2014). Gastrointestinal sistemin, tehlikeli

konakçılarda en büyük kandidiyazis kaynağı olduğu iddia edilir, çünkü sağlıklı bireylerde kolonizasyon vakaların %20 ile %30'unda meydana gelirken, zayıflamış hastalarda %85'e ulaşabilir (Neto ve ark., 1997).

*C. glabrata*: *Candida* türlerinin aksine *C. glabrata* dimorfik değildir. Flukonazole direnç göstermesiyle fırsatçı patojen bir mayadır. Ağız boşluğunda ve stomatitli olgularda en fazla izole edilen tür olarak görülmektedir (Turner ve Butler, 2014). Sonuç olarak, *C. glabrata* enfeksiyonları, risk altındaki hastanede yatan hastalarda yüksek mortalite oranına sahip olduğu bildirilmektedir (Fidel, 1999).

*C. parapsilosis*: Yoğun bakım ünitelerinde sepsis olgularında izole edilmekte ve kontaminant olarak dikkat çekmektedir (Pfaller, 1996; Voss ve ark., 1996). *C. parapsilosis* prevalans vakalarında yoğun bakım ünitelerinde çocuklarda ve prematüre bebeklerde görülme sıklığı daha fazla olduğu gözlemlenmektedir (Levy, 1998). Bu türün klinik izolatları amfoterisin B ve triazolik duyarlı olduğu bildirilmektedir (Diekema, ve ark., 2002; Sanglard ve Odds, 2002).

*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis* ve *C. krusei* hayvanlarda artrit, mastitis ve abort gibi enfeksiyöz hastalıklara yol açan en önemli *Candida* türleri olmakla birlikte, diğer *Candida* türlerinin de enfeksiyonlardan izole edildiği bildirilmiştir (Cohen ve ark., 2008; Dworecka-Kaszak ve ark., 2012; Eldesouky ve ark., 2016; Mousa ve ark., 2016; Stefanetti ve ark., 2014; Şeker, 2010; Şeker ve Özenç, 2011). *Candida* türleri kedi ve köpeklerde dermatitis, enteritis, otitis eksterna ve iç organ enfeksiyonlarına yol açabilir (Ali ve ark., 2015; Duchaussoy ve ark., 2015; Milner ve ark., 1997; Moretti ve ark., 2004; Şahan-Yapıcıer ve ark., 2018). Kanatlılarda en sık etkilenen organlar; gaga, özefagus, kursak, bezli ve kaslı midedir. Bu organlarda psödomembranöz ülser ve beyaz plak şeklinde lezyonlar oluştururken (Hörmansdorfer ve Bauer, 2000; Velasco, 2000), nadiren, deri, ayak, perikard ve kloakada da lezyonlar gözlenebilir (Velasco, 2000).

Gıdalarda mayalar yüksek konsantrasyonda bulunur ve konakçı gastrointestinal sistem, fırsatçı kolonizasyon için uygun koşullar sunmaktadır. *Candida* türleri, çeşitli semptomlara neden olan salgılayan toksik metabolitleri

çoğaltabilir (Colombo ve ark., 2006, Silva, 2010). Gastrointestinal kandidiyazis vakasında, oluşumu tetikleyici faktörler, bağışıklık sistemi eksikliği, hipotiroidizm, diyabet, oral kontraseptif kullanımı, alkolizm, basit karbonhidratlardan zengin bir diyet ve sürekli antibiyotik kullanımı sonucu oluşmaktadır (Menezes ve ark., 2004).

Türk Gıda Kodeksi'nde 'Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri' tebliği itibariyle çiğ sütlerde mikrobiyolojik yönden maya küf sayısına bakılmamaktadır (Anonim, 2006). Maya küf sayısı gıdalarda bozulma açısından önemli olup aynı zamanda patojen maya ve küfleri içerebilmektedir. Bu nedenle halk sağlığı açısından önem arz etmektedir.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Araştırmamız da Haziran-Kasım 2018 tarihleri arasında Burdur ilinin tüm ilçelerinden toplanan farklı süt toplama merkezlerinden alınan 100 süt örneği materyal olarak kullanıldı. Örnekler steril kaplara alınarak soğuk zincirde Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarına getirilen süt örnekleri aynı gün içinde analize alındı.

##### 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ile Besiyerleri

Araştırma da kullanılan besi yerleri ile tablo 3.1.' de gösterilen cihazlar kullanıldı.

##### Potato Dextrose Agar (Merck 1.10130) (PDA)

- Potato infusion 4,0 g/L
- D(+) Glucose 20,0 g/L
- Agar-agar 15,0 g/L
- Hazırlanışı: 1000 ml /39 gr

##### CHROM agar <sup>TM</sup> *Candida* (P00908) (CAC)

- Agar:15 g/L
- Pepton:10,2 g/L
- Chloramphenicol:0,5 g/L
- Melange choromogenique:22 g/L
- Hazırlanışı: 1000ml distile suya 47.7 gr.

##### Sabourraud Dekstrose Broth (SDB) (HIMEDIA, M033-500G)

- Special peptone: 10 g/L
- Dextrose: 20 g/L

- Hazırlanışı:1000 ml distile suya 30 gr.

Hazırlanan besiyerine şüpheli suş ilave edilip 37 °C 48-72 saat etüvde inkübasyona bırakılır. Patojen *Candida* türlerinin çoğu 37 °C birkaç günde ürerken 37 °C üreyemeyenler saprofit özelliği göstermektedir (Yarar, 2014).

#### **Urea Agar Base Christensen (Biolife,4021752)**

- Pepton: 1g/L
- Glucose: 1g/L
- Sodium Chloride: 5g/L
- Potassium Dihydrogen Phosphate: 2g/L
- Phenol Red: 0,012g/L
- Agar: 12g/L
- Hazırlanışı:950ml distile suya 21gr.

#### **Phenol-Red Broth (Base) (Merck 1.10987)**

- Peptone from casein 5,0 g/L
- Peptone from meat 5,0 g/L
- NaCl 5,0 g/L
- Phenol red 0,018 g/L
- Hazırlanışı: 1,5 g/80 mL

#### **YEAST Nitrogen Base (Difco™, 239210)**

- Nitrogen Source
- Amino Acids
- Vitamins
- Compounds Supplying Trace Elements
- Salts

### **Tween 80**

- Polyoxyethylene 20 Sorbitane mono-Oleate,
- Polysorbate 80

### **Corn Meal Agar (Himedia, M146-500G)**

- Corn meal infusion from: 50 gsm/L
- Agar: 15gsm/L
- Hazırlanışı:1000ml distile suya 17gr.

Besiyerini hazırlayıp ısıtıcıda homojen olması sağlanır. İçerisine % 1 polisorbate 80 eklenir. Mısır unu agar *C. albicans* tarafından klamidospore üretimi için kullanılır.

### **Peptone Bakteriological (Biolife, 4019352)**

- Bileşimi:1000 ml distile suya 1gr.

### **Agarose (Vivantis)**

- Sülfat:0.15%
- Gel strength:1200 g/cm<sup>2</sup>
- RNase/DNase Activity: None Detected

### **Tris Borate EDTA (TBE) 10X Solüsyon (SNP Biyoteknoloji, 1410S2)**

- Tris:0.89M
- Borik Asit:0.89M
- EDTA:0.02M

### **Yeast Lysis Buffer**

- 5mg,1ml zymolyase 20T

- 1M sorbitol
- 0,1M EDTA

### 5x FIREPol® Master Mix

- 12.5 mM MgCl<sub>2</sub> ile birlikte

### Etidyum Bromür

- 10 mg/ml 5 ML

**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanım alanları

| Çalışmada Kullanılan Cihazlar | Kullanım Alanları                                                                                                                        |
|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hassas tartı                  | Besi yerlerinin gramajlarını ayarlama kullanıldı                                                                                         |
| Manyetik karıştırıcı          | Hazırlanan besi yerlerinin karıştırılmasını sağladı.                                                                                     |
| Otoklav                       | Kullanılan cam malzemelerin ve besiyerlerinin sterilizasyonu için kullanıldı.                                                            |
| Vorteks                       | Süspansiyonları karıştırmak için kullanıldı.                                                                                             |
| Etüv                          | Maya izolatlarının izolasyonu ve identifikasyonları sırasında üremeleri için gerekli ortamı sağlamak için kullanıldı. (Memmert, Almanya) |
| Santrifüj                     | Farklı yoğunluktaki katı ve sıvı parçacıkların merkez kaç kuvveti ile birbirinden ayrılmasını sağladı.                                   |
| Jel Elektroforez              | DNA'nın yürütülmesi için kullanıldı.                                                                                                     |
| Görüntüleme cihazı            | Jelde yürütülen DNA fragmentlerin UV ışığı altında görüntülenmesi için kullanıldı.                                                       |
| Thermal Cycler                | DNA amplifikatörü                                                                                                                        |

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Örnek Alma ve Örneklerin Analize Hazırlanması

Araştırmada süt toplama tanklarından alınan çiğ süt örnekleri steril şişelere alındı ve analiz için aynı gün içinde Hayvansal Ürünler Hijyen ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarına getirildi. Getirilen her bir örnek aseptik koşullarda  $10^{-4}$  e kadar desimal sulandırılmaları hazırlandı.

#### 3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

##### 3.2.2.1. Maya Sayımları

Süt toplama tanklarından alınan süt örneklerinde maya sayısını belirlemek için PDA (potato dekstroz agar) besi yerine ekimi yapıldı. Besi yeri 25 °C de 5 gün inkübasyona bırakıldı ve inkübasyon sonrası sayım gerçekleştirildi (Aytıp, 2012).

##### 3.2.2.2. *Candida* spp. Sayımı ve İzolatların Seçimi

Süt tanklarından topladığımız çiğ sütler toplam *Candida* spp. sayısının belirlenmesi amacıyla *Candida* CHROMagar yayma plak yöntemi ile ekim yapıldı. 37 °C’ de 24 saat inkübasyona tabi tutularak koloniler sayıldı. *Candida* CHROMagar’da üreyen koloniler renk ayrımına göre patojen *Candida* spp. ayrımı yapılabilmesi için Sabouraud Dextrose Broth’ da çoğaltıldı (Deorukhkar ve ark., 2012).

**Tablo 3.2.** *Candida* CHROMagar besi yerinde *Candida* türlerinin renkleri

| <i>Candida</i> spp. | Renkleri       |
|---------------------|----------------|
| <i>C.albicans</i>   | Yeşil renk     |
| <i>C.tropicalis</i> | Metalik mavi   |
| <i>C.krusei</i>     | Pembe, bulanık |

### 3.2.3. *Candida* spp'nin İdentifikasyonu

*Candida* spp. türlerinin belirlenmesi için Gram Boyama, Germ Tüp Testi, Klamidospor Oluşumu, Karbonhidrat Fermentasyon ve Asimilasyon Testi, Üreaz Testi yapılarak tür ayırımına gidildi.

#### 3.2.3.1. Germ Tüp Testi

Germ tüpü testi *Candida* spp. 'nin tanımlanması için en yaygın yöntemlerden biri olarak kullanılmaktadır. Germ tüp oluşumu için şüpheli izolatlardan bir öze dolusu alınarak 1ml sıgır serumuna inoküle edildi. 37 °C'de üç saatlik inkübasyona tabi tutularak germ tüp yönünden 40X'lık objektifte ışık mikroskopunda incelendi (Deorukhkar ve ark., 2012).

**Tablo 3.3.** *Candida* türleri arasında germ tüp pozitif ve negatif suşlar

| <i>Candida</i> spp.    | Germ tüp pozitif |
|------------------------|------------------|
| <i>C. albicans</i>     | +                |
| <i>C. dubliniensis</i> | +                |
| <i>C. stellaoide</i>   | +                |
| <i>C. tropicalis</i>   | -                |
| <i>C. krusei</i>       | -                |

#### 3.2.3.2. Klamidospor Oluşumu

Klamidospor oluşumunda tween 80 içeren mısır unu besi yeri kullanıldı. Besi yerine paralel olarak ekilen suşların üzerine lamel kapatılarak 30 °C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası petriler 40X objektifte ışık mikroskopunda klamidospor oluşumu incelendi (Deorukhkar ve ark., 2012).

**Tablo 3.4.** Klamidospor pozitif suşlar

| <i>Candida</i> spp.    | Pozitif Suşlar |
|------------------------|----------------|
| <i>C. albicans</i>     | +              |
| <i>C. dubliniensis</i> | +              |
| <i>C. tropicalis</i>   | +              |

### 3.2.4. Biyokimyasal Testler

Koloni morfolojileri belirlenen suşların karbonhidrat fermentasyon testi, karbonhidrat asimilasyon testi yapılarak tür ayırımına gidildi.

#### 3.2.4.1. Karbonhidrat Fermentasyon Testi

Karbonhidrat fermentasyon testi için % 1 oranında steril şeker solüsyonları ile Phenol Red Base (MERCK, 1.10987) besiyeri hazırlandı. Besi yerine 1 ml şeker, 0,1 ml izolat eklenerek 37 °C'de 7-14 gün süreyle inkübe edildi. Karbonhidratın fermentasyonu sonucu besi yerinde şekillenen renk durumuna göre değerlendirildi. Toplam 152 suş tablo 3.5.' de gösterildiği gibi pozitif ve negatif karbonhidrat fermentasyon testi sonuçlarına göre tür ayırımına gidildi (Aytop, 2012).

**Tablo 3.5.** Karbonhidrat fermentasyon testi

| <i>Candida</i> türleri | Karbonhidrat Fermentasyon Testi |        |        |        |
|------------------------|---------------------------------|--------|--------|--------|
|                        | Glikoz                          | Sükroz | Maltoz | Laktoz |
| <i>C. albicans</i>     | +                               | -      | +      | -      |
| <i>C. tropicalis</i>   | +                               | -/+    | +      | -      |
| <i>C. krusei</i>       | +                               | -/+    | -      | -      |
| <i>C. paraplois</i>    | +                               | -      | -      | -      |
| <i>C. grablata</i>     | +                               | -      | -      | -      |
| <i>C. keyfr</i>        | +                               | +      | -      | +      |

#### 3.2.4.2. Karbonhidrat Asimilasyon Testi

Karbonhidrat asimilasyon testi, azot bazlı agar ve karbonhidrat içeren ortam üzerinde büyümenin varlığını gözlemler. Pozitif bir test, sadece bir göstergenin rengindeki değişiklik olmayıp, ortamdaki büyümenin varlığı ile gösterilir. Karbonhidrat asimilasyon testi için Yeast Nitrogen Base (Difco, 239210) besiyeri belirli karbonhidratlarla hazırlandı. İnokülasyon sonucunda 25 °C' de 7 gün inkübasyona tabi tutuldu (Deorukhkar ve ark., 2018). Tablo 3.6' da karbonhidrat asimilasyon testinde kullandığımız şekerler ve bazı *Candida* türlerinin sonuçları belirtildi.

**Tablo 3.6.** Karbonhidrat asimilasyon testi

| <i>Candida</i> türleri | Karbonhidrat Asimilasyon Testi |        |        |          |           |
|------------------------|--------------------------------|--------|--------|----------|-----------|
|                        | Glikoz                         | Sükroz | Laktoz | Trehaloz | Selobiyoz |
| <i>C.albicans</i>      | +                              | +      | -      | +        | -         |
| <i>C.tropicalis</i>    | +                              | +      | -      | +        | +         |
| <i>C.krusei</i>        | +                              | -      | -      | -        | -         |
| <i>C.parapsilosis</i>  | +                              | +      | -      | +        | -         |
| <i>C.glabrata</i>      | +                              | -      | -      | +        | -         |
| <i>C.keyfr</i>         | +                              | +      | +      | -        | +         |

#### 3.2.4.3. Üreaz testi

Üreaz testi için yatık agar besi yerine ekimi yapılarak ve 37 °C’de 1-5 gün inkübasyona bırakıldı. *Candida* türlerinin genelinde üreaz enzimi olmaması sadece *C.krusei*, *C. lipolytica*, *C. humicola*’ da üreaz enzimi olması nedeniyle tür ayırımında kullanıldı (Heath IB, 1995).

#### 3.2.5. DNA İzolasyonu

Genomic DNA Purification Kit’i (Termo Scientific GeneJET) kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Genomic DNA izolasyonunda yapılan işlemler kit protokülüne göre yapıldı.

#### 3.2.6. PCR Testi

*Candida* DNA’sının çoğaltılması: Elde edilen DNA’nın çoğaltılması için ‘panfungal ‘ yani bütün mantalar için ortak olan 3’-CCT GTT TGA GCG TCR-5’ ve 3’-TCC TCC GCT TAT TGA TAT-5’ primerleri ile *C.albicans* için özgül CALBİ F(5’TTT ATC AAC TTG TCA) CALBİ R (5’ATC CCG CCT TAC CAC TAC CG-3’) CAK1 (5’ACT ACA CTG CGT GAG CGG A3’) CAK2 (5’ AAA AAG TCT AGT TCG CTC GG3’) CTR1 (5’ CAA TCC TAC CGC CAG AGG TTA T3’) CTR2 (5’TGG CCA CTA GCA AAA TAA GCG T3’) kullanıldı. Toplam 10 µl olan reaksiyon karışımı 2 µl Taqman Universal PCR Mastermix, 1 µl MgCl<sub>2</sub> (25Mm), 1 µl her bir primer (25pmol), 1 µl probe (20 pmol), 2,5 µl distile su ve 2,5 µl DNA’dan

oluşmaktadır. Amplifikasyon dngs 95 C ve 60 C de denemektedir ve tr dağılımına gidildi (Susever ve Yeğenoğlu, 2012).



**şekil 3.1.** Gene Max Tc-S-B Gene Max PCR cihazı

### **3.2.7. İstatiksel Analiz**

İstatiksel analiz de Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) programı kullanıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Toplam Maya Sayısı ve *Candida* Sayısı ile İlgili Bulgular

Haziran-Kasım 2018 tarihleri arasında farklı süt toplama tanklarından alınan 100 adet süt örneğinin maya sayısının ortalama değeri  $2,6 \times 10^6$  kob/ml ile *Candida* spp.'nin ortalama değeri  $1,0 \times 10^5$  kob/ml olarak bulunmuştur

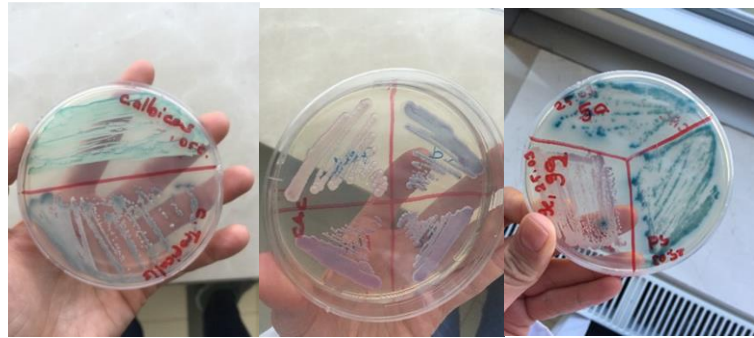
**Tablo 4.1.** Maya-küf ortalaması ( kob/ml)

| Simgeler          | Maya sayısı           | <i>Candida</i> sayısı |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|
| n                 | 100                   | 100                   |
| Min.              | $1,8 \times 10^2$     | $2,0 \times 10^2$     |
| Max               | $3,04 \times 10^7$    | $5,0 \times 10^6$     |
| $\bar{x} \pm S_x$ | $\pm 5,7 \times 10^6$ | $\pm 5 \times 10^5$   |

x: Ortalama, Sx: Standart hata, n: pozitif numune sayısı

### 4.2. *Candida* Tür Dağılımı ile İlgili Bulgular

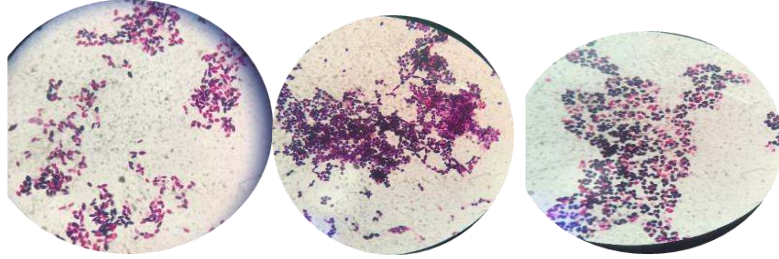
Çalışmamız da 100 adet süt örneğinin 94'nde (%94) *Candida* CHOROMagar besiyerine ekimi yapılarak üreme sonucunda patojen *Candida* spp. şüpheli olduğu düşünülen renkli kolonilerden 152 suş elde edildi. Suşlar Gram boyama ile çeşitli biyokimyasal testlere tabi tutuldu. Şekil 4.1.' de farklı renkte üreyen suşlar ve referans suşların renkleri görülmektedir.



**Şekil 4.1.** *Candida* CHOROMagar besiyerindeki renk oluşumları

#### 4.2.1. Gram Boyama ve Biyokimyasal Test Bulguları

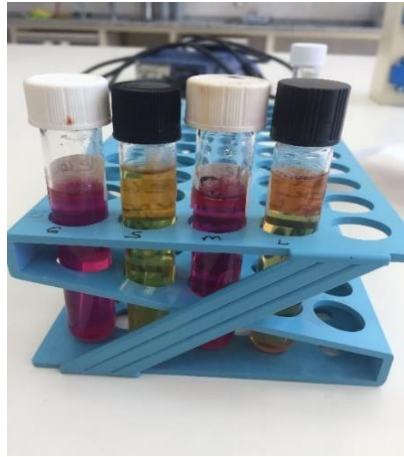
Gram boyaması yapılan 152 suşun Gram pozitif maya hücreleri olduğu saptandı. Pozitif mayaların mikroskopik görüntüsü Şekil 4.2.'de görülmektedir.



Şekil 4.2. *Candida* spp.'nin gram boyama görünümü

#### 4.2.2. Karbonhidrat Fermentasyon Testi

Glikoz, maltoz, sükroz ve laktoz şekerlerinden oluşan karbonhidrat fermentasyon testi sonucunda 152 suşun 51'nin patojen *Candida* türleri olabileceği belirlendi. Şekil 4.4' de karbonhidrat fermentasyon testine tabi tutulan suşlar ile Şekil 4.3'de glikoz ve maltoz negatif, sükroz ve laktoz pozitif veren bir suşun karbonhidrat fermentasyon test sonucu gösterildi.



Şekil 4.3. Karbonhidrat fermentasyon testi pozitif ve negatif tüpler



**Şekil 4.4.** Karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları

#### 4.2.3. Üreaz Testi

Üreaz testine tabi tutulan 152 suşun 4 tanesinin üreaz pozitif olduğu görüldü. Şekil 4.5'te üreaz pozitif ve negatif sonuç veren suşlar belirtildi.



**Şekil 4.5.** Üreaz testi görünümü

#### 4.2.4. Karbonhidrat Asimilasyon Testi

Patojen *Candida* türlerinden olabileceği düşünülen 51 suşa karbonhidrat asimilasyon testi uygulandı. Üreaz pozitif suşlar asimilasyon testi sonucunda *C. krusei* olmadıkları tespit edildi. Karbonhidrat asimilasyon testi sonucuna göre 15 (%15) adet patojen *Candida* spp. saptandı ancak yapılan biyokimyasal testler sonucunda 4 tanesinin türü tam doğrulanamadı. Karbonhidrat asimilasyon testi sonucunda 11 tanesinin *C.tropicalis* olduğu belirlendi. Şekil 4.6.' da karbonhidrat asimilasyon testi

pozitif ve negatif suşlar gösterildi. Yapılan karbonhidrat asimilasyon testi sonuçları Tablo 4.2.'de belirtildi.



**Şekil 4.6.** Karbonhidrat asimilasyon testi pozitif ve negatif suşlar

**Tablo 4.2.** Karbonhidrat asimilasyon testi sonuçları

| Örnek sayısı | Örnek numarası | Glikoz | Sükroz | Laktoz | Trehaloz | Sellobioz |
|--------------|----------------|--------|--------|--------|----------|-----------|
| 1.           | 12a1           | -      | -      | -      | -        | -         |
| 2.           | 13c            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 3.           | 2c             | +      | +      | -      | +        | +         |
| 4.           | 7a3            | +      | +      | +      | -        | -         |
| 5.           | 11c1           | +      | -      | -      | -        | +         |
| 6.           | 2a             | +      | +      | -      | +        | +         |
| 7.           | 1a             | -      | -      | -      | +        | -         |
| 8.           | 17a            | -      | -      | +      | +        | +         |
| 9.           | 16a            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 10.          | 11f            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 11.          | 16b            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 12.          | 31a2           | +      | +      | -      | +        | +         |
| 13.          | 31a1           | -      | +      | +      | +        | +         |
| 14.          | 13d            | -      | -      | -      | +        | -         |
| 15.          | 14d2           | +      | +      | -      | +        | +         |
| 16.          | 21d1           | +      | +      | -      | +        | +         |
| 17.          | 14a1           | -      | -      | -      | -        | -         |
| 18.          | 21a1           | +      | +      | -      | +        | +         |
| 19.          | 10h            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 20.          | 21c2           | -      | -      | -      | -        | -         |

**Tablo 4.2.** (Devam) Karbonhidrat asimilasyon testi sonuçları

| Örnek sayısı | Örnek numarası | Glikoz | Sükroz | Laktoz | Trehaloz | Sellobioz |
|--------------|----------------|--------|--------|--------|----------|-----------|
| 21.          | 10i            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 22.          | 29a2           | +      | +      | -      | +        | +         |
| 23.          | 15a(2)         | -      | -      | -      | -        | -         |
| 24.          | 22a1           | -      | -      | -      | -        | -         |
| 25.          | 31c2           | +      | +      | -      | +        | +         |
| 26.          | 10g            | -      | -      | -      | +        | -         |
| 27.          | 21b2           | +      | +      | +      | +        | -         |
| 28.          | 34b4           | -      | -      | -      | -        | -         |
| 29.          | 11a4           | -      | -      | -      | -        | -         |
| 30.          | 6a             | -      | -      | -      | -        | +         |
| 31.          | 29a1           | -      | -      | +      | +        | +         |
| 32.          | 10a            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 33.          | 7a             | -      | -      | -      | -        | +         |
| 34.          | 14a3           | -      | -      | -      | +        | +         |
| 35.          | 19b1           | -      | -      | -      | -        | -         |
| 36.          | 10j            | -      | +      | +      | +        | -         |
| 37.          | 13a2           | +      | -      | +      | +        | -         |
| 38.          | 5a             | -      | -      | +      | -        | +         |
| 39.          | 21c1           | +      | +      | -      | +        | +         |
| 40.          | 17d            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 41.          | 10f            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 42.          | 12a            | +      | +      | -      | +        | +         |
| 43.          | 16a1           | -      | -      | -      | -        | -         |
| 44.          | 12c            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 45.          | 27a3yeşil      | -      | -      | +      | +        | +         |
| 46.          | 35b1           | -      | -      | +      | -        | -         |
| 47.          | 20a1           | -      | -      | -      | -        | -         |
| 48.          | 9e1            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 49.          | 15a1           | +      | +      | -      | +        | +         |
| 50.          | 17c            | -      | -      | -      | -        | -         |
| 51.          | 14c            | -      | -      | -      | -        | -         |

**Tablo 4.3.** Glikozu fermente eden *Candida* suşlarının karbonhidrat asimilasyon test sonuçları ve tür dağılımı

| Örnek sayısı | Örnek no | Glikoz | Sükroz | Laktoz | Trehaloz | Sellobioz | Tespit edilen tür   |
|--------------|----------|--------|--------|--------|----------|-----------|---------------------|
| 1.           | 2c       | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |
| 2.           | 7a3      | +      | +      | +      | -        | -         | Tanımlanamadı       |
| 3.           | 11c1     | +      | -      | -      | -        | +         | Tanımlanamadı       |
| 4.           | 2a       | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |
| 5.           | 31a2     | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |

**Tablo 4.3.** (Devam) Glikozu fermente eden *Candida* suşlarının karbonhidrat asimilasyon test sonuçları ve tür dağılımı

| Örnek sayısı | Örnek no | Glikoz | Sükroz | Laktoz | Trehaloz | Sellobioz | Tespit edilen tür   |
|--------------|----------|--------|--------|--------|----------|-----------|---------------------|
| 6.           | 14d2     | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |
| 7.           | 21d1     | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |
| 8.           | 21a1     | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |
| 9.           | 29a2     | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |
| 10.          | 31c2     | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |
| 11.          | 21b2     | +      | +      | +      | +        | -         | Tanımlanamadı       |
| 12.          | 13a2     | +      | -      | +      | +        | -         | Tanımlanamadı       |
| 13.          | 21c1     | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |
| 14.          | 12a      | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |
| 15.          | 15a1     | +      | +      | -      | +        | +         | <i>C.tropicalis</i> |

Karbonhidrat asimilasyon testinde tablo 4.3’ de patojen *Candida* spp’lerin hepsinin glikozu asimile ettiği belirlendi ve glikoz pozitif olan suşlardan (%11) 11 tanesini *C.tropicalis* olarak tespit edildi.

#### 4.2.5. Germ Tüp Testi Ve Klamidospor Testi

Gram boyamadan hemen sonra yapılan germ tüp ve klamidospor testi sonucunda tüm suşların negatif sonuç verdiği görüldü. Germ tüp ve klamidospor testleri sonuçları Tablo 4.4’ de belirtildi

**Tablo 4.4.** Klamidospor ve germ tüp testi

| Klamidospor testi | Sonuç | Germ tüp testi | Sonuç |
|-------------------|-------|----------------|-------|
| 2a                | -     | 2a             | -     |
| 21b2              | -     | 21b2           | -     |
| 31a2              | -     | 31a2           | -     |
| 7a3               | -     | 7a3            | -     |
| 2c                | -     | 2c             | -     |
| 21c2              | -     | 21c2           | -     |
| 21d1              | -     | 21d1           | -     |
| 15a1              | -     | 15a1           | -     |
| 29a2              | -     | 29a2           | -     |
| 13a2              | -     | 13a2           | -     |
| 14d2              | -     | 14d2           | -     |
| 11c1              | -     | 11c1           | -     |
| 12a               | -     | 12a            | -     |

**Tablo 4.4.** (Devam) Klamidospor ve germ tüp testi

| Klamidospor testi | Sonuç | Germ tüp testi | Sonuç |
|-------------------|-------|----------------|-------|
| 31c2              | -     | 31c2           | -     |
| 21a1              | -     | 21a1           | -     |

#### **4.2.6. Patojen *Candida* İzolatların DNA İzolasyonu ve PCR Tayini ile Doğrulanması**

Su ların türlerini doğrulamak için tüm suçlara DNA izolasyonu ve PCR testi uygulandı. DNA İzolasyonunda GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, K0721) kit protokolünün aşamalarını uygulandı.

##### **4.2.6.1. DNA ekstraksiyonu**

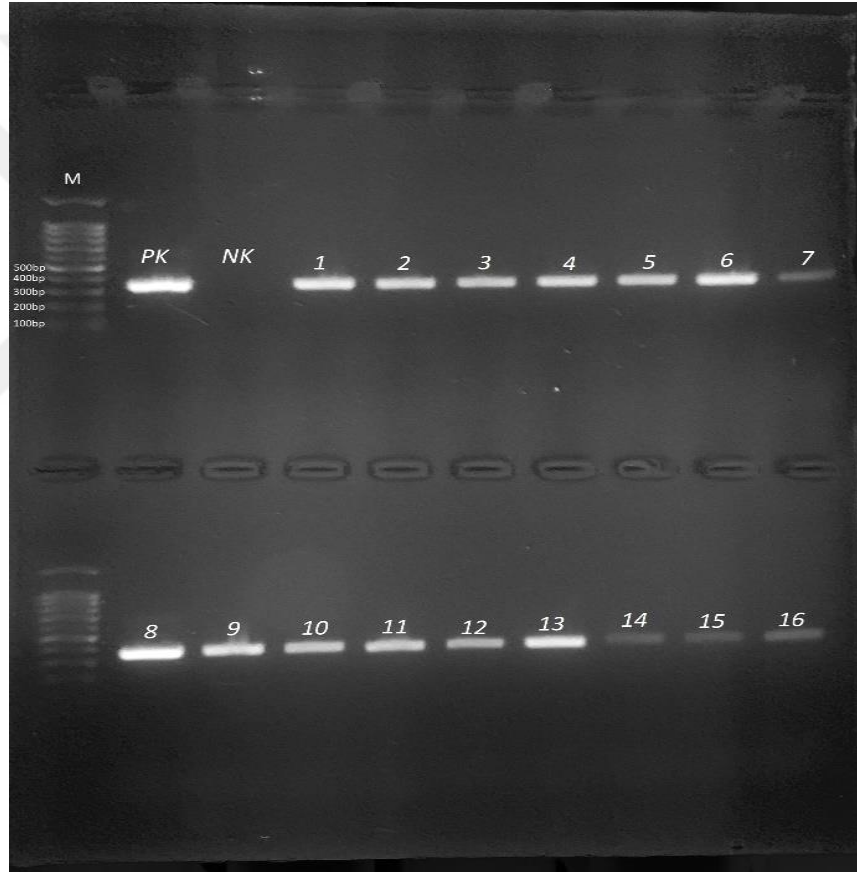
Fenotipik olarak *Candida* spp olarak saptanan su lar, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği ile doğrulanmıştır. DNA izolasyonu amacıyla GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, K0721) ile gerçekleştirilmiştir.

##### **4.2.6.2. PCR Yöntemi**

DNA ekstraksiyonu sonucunda izolatlarda *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* doğrulanması PCR yöntemi ile gerçekleştirildi. PCR yöntemi Susever ve Yeğenoğlu (2012) tarafından bildirilen ve Tablo.4.5’de gösterilen primer dizileri kullanıldı. Standart PCR işlemi 20  l toplam hacimde 5x FIREPol® Master Mix (Solis Biodyne, Tartu, Estonia) kullanarak 94 C 3 dk  n denatürasyonu takiben, 35 siklus olacak şekilde; 94 C’de 1 dk, 62 C’de 1 dk, 72 C’de 1 dk ve son olarak 72 C’de 5 dk koşullarında amplifikasyona tabi tutuldu. Amplifiye PCR  r nleri %1,5’lik agaroz jelde elektroforez işlemi uygulandıktan sonra görüntülendi. Şekil 4.7.’ de belirtildiği gibi 15  usun 15’ i de *C.tropicalis* olarak tespit edildi. Elde edilen 15 su  farkli süt toplama tanklarına ait sütlerde olması nedeniyle (%15) 15 su un patojen *Candida* türü olan *C. tropicalis*’in %15 oranında olduğu saptandı.

**Tablo 4.5.** PCR çalışmasında kullanılan primer dizileri (Susever ve Yeğenoğlu, 2012).

|                      | Primer I                                      | Primer II                                  | bp     |
|----------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------|--------|
| Universal            | ITS1 (5' GTG AAA TTG TTG AAA GGG AA 3')       | ITS2 (5' GAC TCC TTG GTC CGT GTT 3')       | 550 bp |
| <i>C. albicans</i>   | CALB1 F (5' TTT ATC AAC TTG TCA CAC CAG A-3') | CALB2 R (5' ATC CCG CCT TAC CAC TAC CG-3') | 273 bp |
| <i>C. krusei</i>     | CAK1 (5' ACT ACA CTG CGT GAG CGG AA 3')       | CAK2 (5' AAA AAG TCT AGT TCG CTC GG 3')    | 360 bp |
| <i>C. tropicalis</i> | CTR1 (5'CAA TCC TAC CGC CAG AGG TTA T 3')     | CTR2 (5' TGG CCA CTA GCA AAA TAA GCG T 3') | 357 bp |



**Şekil 4.7.** PCR Yönteminde *C. tropicalis* Pozitif Örneklerin Görünümü. **M:** Marker **PK:** Pozitif Kontrol **NK:** Negatif Kontrol

## 5. TARTIŞMA

İnsan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan süt; hijyenik koşullarda üretilmediği, saklanmadığı, işlenmediği ve gerekli kontrollerinin yapılmadığı durumlarda insan sağlığını tehlikeye atmaktadır. Çiğ süt az sayıda mikroorganizma içerse bile sağımdan sonra çevreden hijyenik olmayan alet ekipmandan, süt toplama tanklarından, veteriner hekim uygulamaları gibi çok çeşitli yollardan süte geçmektedir (Jakobsen, M ve ark., 1996). Kompleks biyokimyasal yapısı ve yüksek su kapasitesi nedeniyle çiğ süt, birçok mikroorganizma için ideal bir besin ortamı oluşturmaktadır (Üzüm, 2006). *Candida* spp. süt ve süt ürünlerinde düşük su aktivitesi, yüksek tuz konsantrasyonu, düşük pH değeri ve düşük sıcaklıkta rahatlıkla gelişebilmesi enzim aktivitesi ile ürünlerde bozulmalara yol açmaktadır (Jakobsen, M ve ark., 1996). *Candida* spp. sadece süt ve süt ürünlerinde önemli olmayıp aynı zaman da gıda sektörü içinde istenmeyen mikroorganizmalardır (Metin, 1996).

Çalışmamızda Burdur'un farklı süt toplama merkezlerinden alınan sütler patojen *Candida* türleri yönünden incelendi. İnceleme sonunda sütler de maya sayısı ortalama değeri  $2,6 \times 10^6$  kob/ml oranında bulundu. *Candida* spp. ise ortalama olarak  $1,0 \times 10^5$  kob/ml oranında bulundu. Maksimum ve minumum aralığı ise  $3,04 \times 10^7$  kob/ml –  $1,8 \times 10^2$  kob/ml olarak tespit edildi. Çalışmamız da 100 adet süt örneğinin 94'ünde (%94) *Candida* CHOROMagar besiyerine ekimi yapılarak *Candida* spp. olduğu düşünülen 152 suş elde edildi. Yapılan karbonhidrat fermentasyon testi ve karbonhidrat asimilasyon testi sonucunda 15 patojen *Candida* türü saptandı. Çalışmamız da 15 suşun farklı sütlere ait olması nedeniyle 100 süt örneğinde %15 oranında patojen *Candida* spp. elde edildi. DNA izolasyonu ve PCR tekniği uygulanan suşların hepsinin (%15) *C. tropicalis* olduğu doğrulandı.

Lavoie ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada 19 süt toplama tanklarından alınan 19 çiğ süt örneğinden 339 izolat elde etmişlerdir. Bu izolatlardan 148'nin *Candida* spp. olduğunu ve 14 tanesinin *C. tropicalis* olduğunu ifade etmişlerdir. Hiçbir süt örneğinde *C.albicans* ve *C. krusei* saptamamışlardır. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada 100 süt örneğin 152 suşun *Candida* spp. olduğu ve bunların 15 tanesi (%15)

*C. tropicalis* olduğu saptandı. Bu çalışma ile bulgularımızın paralel olduğu gözlemlendi.

Buehler ve ark. (2017), yaptıkları bir çalışmada 8 adet süt toplama tanklarından aldıkları süt örneklerinden 10 izolat elde edilmiştir. Bunlardan 3'ünün *C. tropicalis* suşu saptanmış fakat *C. albicans* ve *C.krusei* suşu saptamamış olup bizim çalışmamız ile benzer sonuçlar bulmuşlardır.

Aytop (2012), çiğ sütlerde toplam maya sayısına baktığı bir çalışmada 73 çiğ süt örneğini incelemiştir. Araştırma sonucunda toplam maya sayısının ortalama değerinin  $1,91 \times 10^6$  kob/ml ile maksimum ve minimum değerlerinin ise sırayla  $3,5 \times 10^6$  -  $6 \times 10^5$  kob/ml olduğunu bulmuştur. Sonuçlar bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

Göncü ve ark. (2017), sokak sütleriyle yaptıkları bir çalışmada yaz mevsiminde toplam maya sayısının ortalama değerinin  $3,25 \times 10^5$  kob/ml olduğunu saptamışlardır. Yaz mevsiminde elde ettikleri maya sayısı bizim çalışmamız ile paralellik göstermektedir.

Kesenaş ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada 50 adet çiğ süt örneğinin toplam maya-küf sayısını ortalama değerinin  $2,15 \times 10^3$  kob/ml, maksimum  $2,55 \times 10^5$  kob/ml olarak tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda elde ettikleri bu veriler bizim çalışmamızdan düşük olduğu görülmüştür.

Kıvanç ve ark. (1992), Eskişehir' de tüketilen çiğ sütlerde toplam maya-küf sayısı ortalama  $1,07 \times 10^7$  kob/ml olarak bulmuşlar. Bizim değerimize göre yüksek sonuç elde etmişlerdir.

Alişarlı ve ark. (2003), 100 süt örneği ile süt sağılan hayvanların meme başı derisindeki mikroorganizmalar araştırdıkları çalışma sonucunda meme başında bulunan toplam maya-küf sayısının ortalama değerini  $6.0 \times 10^1$  kob/ml bulmuşlar. Çiğ sütte ise toplam maya-küf sayısının  $4,8 \times 10^1$  kob/ml olduğunu ve memenin sütü kontamine ettiği sonucuna varmışlardır.

Younis ve ark. (2017), yaptıkları çalışmada 100 çiğ süt örneğinde maya varlığına bakmışlardır. Süt örneklerinde %9 oranında maya saptamışlar ve bunun %3'ünün patojen *Candida* spp. olduğunu belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda elde ettikleri patojen *Candida* spp. yüzdesi bizim bulduğumuz değerden oldukça düşük olduğu görülmüştür.

Yurdakul ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada 100 adet beyaz peynir örneğinden %84 *Candida* spp. tespit etmişler ve analiz sonucunda %14'ü *C. krusei*, %5'i *C. tropicalis* olarak saptamışlardır.

El Diasty ve Salem (2009), süt ürünlerinde lipolitik ve proteolitik mantarlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada tereyağ numunelerinin %10' unun *C. tropicalis* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

Andréia Spanemberg ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada sağlıklı 482 koyun sütün 31'inde ve mastitisli 106 koyun sütünün 22'sinde maya tespit etmişlerdir. Toplam 53 süt numunesinin 60 maya izole etmişler ve bu 60 maya izolatının 42'sinin (%70)'ni *Candida* spp. olarak bulmuşlar. Tür identifikasyonuna gidilmesi sonucunda 6 tanesinin *C. tropicalis*, 4 tanesinin *C. albicans* olduğunu saptamışlardır. Hiçbir süt örneğinde *C. krusei* rastlanmadığı ve *C. tropicalis*'in sık kullanılan antifungal ilaçlara direnç gelişmesi nedeniyle sütlerde sıklıkla rastlandığını ifade etmişlerdir.

Erbaş ve ark. (2017), 260 mastitisli süt örneğini maya yönünden incelemişlerdir. Mastitisli sütlerin 46'sında (% 17.7) *Candida* spp. saptamışlardır. *Candida* türü dağılımında ise 12 (% 26.1) tanesinin *C. tropicalis* olduğu ve baskın tür olduğu belirtilmiştir.

Durlu Özkaya ve ark. (2005), çeşitli peynir örneklerinde maya izolasyonu yaptıkları bir çalışmada birer adet. *C. kefir*, *C. krusei*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. ciferrii* ve *C. glabrata* izole etmişlerdir.

Şeker (2010), yaptıkları bir çalışmada elde ettikleri izolatların tür tayinini yapmışlardır. Sonuç olarak mastitisli sütlerde 207 *Candida* izolatında 72'nin (% 34.8)

*C. krusei*, 20'nin (% 10.1) *C. albicans* ve 19'nun (% 9.2) *C. tropicalis* olduğunu belirtmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada 100 süt örneğinin %94'ünde *Candida* spp'nin varlığı yönünden pozitif bulunmuştur. Biyokimyasal ve PCR analizleri sonucunda %15'nin *C. tropicalis* olduğu gözlenmiştir. Çiğ süt örneklerinde patojen *Candida* türlerinin varlığının halk sağlığı açısından önemli olduğu görülmüştür.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmamızın sonucunda süt toplama tanklarından elde ettiğimiz patojen *Candida* türü olan *C.tropicalis* 'in işletmelerde uzun süreli antibiyotik kullanımı veya hijyen yetersizliğinden dolayı sütlerde bulunduğu düşünülmektedir. Klinik ve subklinik mastitis ile alakalı olduğu, süt ve süt ürünlerinde *Candida* spp. tarafından kontamine olabilme riskinin artabileceğini göstermektedir. Değişik kaynaklardan süte karışan *Candida* spp.'ler sütte hızla çoğalıp, sütün renginde, tadında, kokusunda ve kıvamında değişiklikler göstermektedir. Sonuç olarak mikrobiyal kontaminasyon engellenerek süt kalitesini arttırmak için gerekli önlemler alınmalıdır. Öncelikle meme sağlığına dikkat edilmeli ineklerde mastitis oluşumu önlenmelidir. Mastitisli sütler sağlıklı hayvan sütleriyle karıştırılmamalıdır. Çiğ sütlerde toplam maya-küf sayısının bakılmaması büyük problemlere yol açmaktadır. Toplam maya-küf sayısının yanında süt ve süt ürünleri ile diğer gıdalarda patojen maya ve küflere bakılması toplum sağlığı açısından önemli olduğu görülmektedir.

Araştırmamızın sonucunda bulduğumuz patojen *Candida* türü olan *C.tropicalis* çiğ süt ve süt ürünleri aracılığıyla duyarlı kişilerce alınması durumunda hastalık oluşturma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu nedenle insanların mikotik enfeksiyonlarında süt kaynaklı bulaşmaya dikkat edilmelidir. Çiğ sütlerdeki varlığı hem süt sektörü hem de halk sağlığı açısından risk oluşturduğu bildirilmektedir.

## KAYNAKLAR

**Ajenjo MC, Morley JC, Russo AJ, McMullen, KM, Robinson C, Williams RC, Warren DK (2011).** Peripherally inserted central venous catheter-associated bloodstream infections in hospitalized adult patients. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, **32**(2), 125-130.

**Al-Fattani MA Douglas LJ (2006).** Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. *J. Med. Microbiol.*, **55**, 999-1008.

**Ali HH, Al-Obaidi RM, Fattah CH (2015).** Molecular identification of *Candida* species isolated from ears of dogs infected with otitis externa by detecting internal transcript spacer (ITS1 and ITS4) in Sulaimania, Iraq. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, **3**, 491-499.

**Alişarlı M, Solmaz H, Akkaya L (2003).** Süt İneklerinde Meme Bası Derilerinin Bazı Mikroorganizmalar ve Çiğ Sütlerinin de Mikrobiyolojik Kalite Yönünden incelenmesi. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.*, **14**,1, 35-39.

**Almirante B, Rodríguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, Sanchez F, Ayats J, Alonso-Tarres C, Rodriguez-Tudela JL, Pahissa A, Saball P (2005).** Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J. Clin. microbiol.*, **43**(4), 1829-1835.

**Andréia Spanamberg, Cibele Floriano Fraga, Laerte Ferreira, Márcio Scherer Aginsky, Edna Maria Cavallini Sanches, Carlos Rohe, Cláudia Lautert, Janio Moraes Santuri (2014).** Yeasts in the Raw Ewe's Milk. *Acta. Sci. Vet.*, **42**, 1236.

**Anonim, (2006).** Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. R.Gazete: 14.02.2000-23964, Tebliğ No: 2000/6 .

**Arda (2015).** *Temel Mikrobiyoloji*, 5. baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, s: 14-359.

**Asmundsdottir LR, Erlendsdóttir H, Gottfredsson M (2002).** Increasing incidence of candidemia: results from a 20-year nationwide study in Iceland. *J. Clin. microbiol.*, **40**(9), 3489-3492.

**Atasoy FA, Türkoğlu H, Özer BH (2003).** Şanlıurfa ilinde üretilen ve satışa sunulan süt, yoğurt ve Urfa peynirlerinin bazı mikrobiyolojik özellikleri. *HRÜ. ZF. Derg.*, **7**, 77-83

**Aydın M (2004).** *Candida* cinsi mantarlar (*Candida albicans*). Ed. Cengiz, Mısırlıgil, Aydın. Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel Mikrobiyoloji. Konu 133. Sa:1109-1118. Güneş yayınevi, Ankara

**Bassetti M, Righi E, Costa A, Fasce R, Molinari MP, Rosso R, Allavicini FB, Viscoli C (2006).** Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC. Infec. Dis.*, **6(1)**, 21.

**Beğendik F (2003).** İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyolojide Biyofilm. *Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ZONGULDAK*

**Buehler, A. J., Evanowski, R. L., Martin, N. H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2017).** Internal transcribed spacer (ITS) sequencing reveals considerable fungal diversity in dairy products. *J. Dairy. Sci.*, **100(11)**, 8814-8825.

**Calderone RA (2002).** Introduction and historical perspectives *Candida and Candidiasis* (Calderone R., ed), pp. 15–25. ASM Press, Washington, DC.

**Cantón E, Pemán J, Quindós G, Eraso E, Miranda-Zapico I, Álvarez M, Merino P, Campos-Herrero I, Marco F, De la Pedrosa EG, Yagüe G, Guna R, Rubio C, Miranda C, Pazos C, Velasco D, Yagüe G (2011).** Prospective multicenter study of the epidemiology, molecular identification, and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* isolated from patients with candidemia. *Antimicrob. agents chemother.*, **55(12)**, 5590-5596.

**Carpentier B, Cerf O (1993).** Biofilms and their consequences with particular reference to hygiene in the food industry. *J. Appl. Bacteriol.*, **75**, 499-511.

**Cohen JM, Ross MW, Busschers E (2008).** Diagnosis and management of *Candida utilis* infectious arthritis in a Standardbred filly. *Equine vet. Educ.*, **20**, 348-352.

**Colombo AL, Guimarães AT (2003).** Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **36**, 599-607.

**Colombo AL, Guimarães T, Silva LR, de Almeida Monfardini, LP, Cunha AKB, Rady Alves T, Rosas RC (2007).** Prospective observational study of candidemia in Sao Paulo, Brazil: incidence rate, epidemiology, and predictors of mortality. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, **28(5)**, 570-576.

**Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, da Matta DA, Warnock D, Morgan J (2006).** Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *J. of clinical microbiol.*, **44**, 2816-2823.

**Cruciani M, Serpelloni G (2008).** Management of *Candida* infections in the adult intensive care unit. *Expert. Opin. Pharmacother.*, **9**, 175-191.

**Çerikcioğlu N (2012).** Mantarlarda Virülans Faktörleri. *Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. ANKEM Derg.*, **26(2)**, 261-269.

**Deak T, Beuchat LL (1996).** Handbook of Food Spoilage Yeasts. CRC Press, Florida, 210-315.

**Deorukhkar SC, Saini S, Jadhav PA (2012).** Evaluation of different media for germ tube production of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *IJBAR.*, **3**, 704-707.

**Deorukhkar SC, Roushani S (2018).** Identification of *Candida* Species: Conventional Methods in the Era of Molecular Diagnosis. Department of Microbiology, Rural Medical College, Pravara Institute of Medical Sciences (DU), India.

**Diekema D, Arbefeville S, Boyken L, Kroeger J, Pfaller M (2012).** The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **73**(1), 45-48.

**Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN, SENTRY Participants Group. (2002).** Age-related trends in pathogen frequency and antimicrobial susceptibility of bloodstream isolates in North America: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–2000. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **20**(6), 412-418.

**Duchaussoy AC, Rose A, Talbot JJ, Barrs VR (2015).** Gastrointestinal granuloma due to *Candida albicans* in an immunocompetent cat. *Med. Mycol. Case. Rep.*, **10**, 14-17.

**Dunne WM Jr (2002).** Bacterial adhesion: Seen any good biofilm lately. *Clin. Microbiol. Rev.*, **15**, 155-16.

**Dworecka-Kaszak B, Krutkiewicz A, Szopa D, Kleczkowski M, Biegańska M (2012).** High prevalence of *Candida* yeast in milk samples from cows suffering from mastitis in Poland. *Sci WORLD J.*, <http://dx.doi.org/10.1100/2012/196347> (Erişim Tarihi: 22.08.2018).

**Elder MJ, Stapleton F, Evans E, Dart KG (1995).** Biofilm related infections in ophthalmology. *Eye.*, **9**, 102-109.

**Eldesouky I, Mohamed N, Khalaf D, Salama A, Elsify A, Ombarak R, El-Ballal S, Effat M, Shabrawy MAL (2016).** *Candida* mastitis in dairy cattle with molecular detection of *Candida albicans*. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, **22**, 461-464.

**Eman M, El-Diasty, R.M. Salem (2008).** Incidence of lipolytic and proteolytic fungi in some milk products and their public health significance. Faculty of Veterinary Medicine, Omar El-Mokhtar University- Libya.

**Erbaş G, Parın U, Kırkan Ş, Savaşan S, Özavcı V, Yüksel HT (2017).** Identification of *Candida* strains with nested PCR in bovinemastitis and determination of antifungal susceptibilities. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **41**(6), 757-763.

**Fidel PL Vazquez JA Sobel JD (1999).** *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin. Microbiol. Rev.*, **12**, 80-96.

**Gökçe RG (2006).** Kandidemi Olgularından İzole Edilen Candida Türlerinin Virülans Faktörlerinin Araştırılması. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

**Haley LD (1961).** Yeasts of medical importance. *Am. J. Clin. Pathol.* **36**, 3.

**Haug A, Høstmark AT, Harstad OM (2007).** Bovine milk in human nutrition—a review. *Lipids. Health. Disease.*, **6**, 25

**Heath IB (1995).** The cytoskeleton. In: Gow NAR , Gadd G.M (eds). The growing fungus . London: Chapman and Hall., 99.

**Homan EJ, Wattiaux M (1995).** *Lactation and Milking (Laktasyon ve Sağım)*. Çev: Musal B., Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi Yayınevi, s:3-100

**Hörmansdorfer S, Bauer J (2000).** Yeast infections in veterinary medicine. In: Ernst JF, Schmidt A. (Eds), Dimorphism in human pathogenic and apathogenic yeasts, Karger, Basel, vol 5, p:54-78.a

**Hsueh PR, Lau YJ, Chuang YC, Wan, JH, Huang WK, Shyr JM, Yang YC (2005).** Antifungal susceptibilities of clinical isolates of Candida species, Cryptococcus neoformans, and Aspergillus species from Taiwan: surveillance of multicenter antimicrobial resistance in Taiwan program data from 2003. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **49**, 512-517.

**Hsueh PR1, Chen WH, Luh KT (2005).** Relationships between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria causing nosocomial infections from 1991-2003 at a university hospital in Taiwan. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **26**, 463-472.

**İnci R (1999).** Mantarların yapıları, Üreme Özellikleri ve Sınıflandırılması, In: Ustaçelebi Ş (ed) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, pp:1015-1021

**İnci R, Hilmioğlu S (2000).** Kandidemi Olgularından İzole Edilen Candida Türlerinin Virülans Faktörlerinin Araştırılması *Nozokomiyal Fungal İnfeksiyonlara Yaklaşım. Klimik Dergisi*, **13**, 28-31

**Jakobsen M, Narvhus J (1996).** Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. *Int. Dairy. J.*, **6**, 755-768.

**Jensen RG, Newburg DS (1995).** Bovine milk lipids. In: Jensen RG, editor. Handbook of milk composition. Academic Press, USA; pp. 543–575.

**Karabıyık S (2006).** *Süzme Yoğurt Prosesinde Mikrobiyolojik Kritik Kontrol Noktalarının Belirlenmesi*. Selçuk Üniversitesinden Bilimleri Enstitüsü, Konya/Türkiye.

**Kaya Bozkurt F (2008).** Nozokomiyal İnfeksiyon Etkeni Olan Ve Steril Vücut Sıvılarından İzole Edilen Candida Türlerinin Tiplendirilmesi Ve Antifungal

Duyarlılıklarının E Test Yöntemi İle Belirlenmesi. *Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği*, İstanbul.

**Kaynar P. (2011).** Ülkemiz peynirleri üzerine mikrobiyolojik araştırmalar. *Türk Mikrobiyol. Cemiy. Derg*, **41(1)**, 1-8.

**Kesenaş H, Akbulut N (2010).** İzmir ilinde satılan sokak sütleri ile orta ve büyük ölçekli çiftliklerde üretilen sütlerin özelliklerinin belirlenmesi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, **47(2)**, 161-169.

**Koneman EW (1997).** Color atlas and TextBook of Diagnostic Microbiology. EUA.

**Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (1997).** Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, Lippin Cott, Philadelphia, USA. 11-Yean, FM (2000). Biochemical test of identification of medical bacteria.

**Krasner RI (2002).** Microbial disease concepts. Microbial Control: Human-Microbe Interactions, chapter 6, p. 103-120. Washington, DC: American Microbiology Association.

**Kumamoto CA (2002).** Candida biofilms. *Curr. Opin. Microbiol.*, **5(6)**, 608–611.

**Kwon-Chung KJ, Bennett JE (1992).** Medical Mycology. Philadelphia, Lea and Febinger, 280-336.

**Larone DH (2002).** Medically Important Fungi; A Guide to Identification . 4th edn. ASM Press, Washington.

**Larone DH (1998).** Medical Important Fungi. 2 nd ed. Washington AMS:53

**Lavoie K, Touchette M, St-Gelais D, Labrie S (2012).** Characterization of the fungal microbiota in raw milk and specialty cheeses of the province of Quebec. *Dairy. Sci. Technol.*, **92(5)**, 455-468.

**IDonlan RM, Costerton WJ (2002).** Biofilms: Survival mechanisms of clinical relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, **15**, 167-93.

**Levin AS, Costa SF, Mussi NS, Basso M, Sinto SI, Machado C, Branchini ML (1998).** Candida parapsilosis fungemia associated with implantable and semi-implantable central venous catheters and the hands of healthcare workers. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **30(4)**, 243-249.

**Levy I, Rubin LG, Vasishtha S, Tucci V, Sood SK (1998).** Emergence of Candida parapsilosis as the predominant species causing candidemia in children. *Rev. Infect. Dis.*, **26(5)**, 1086-1088.

**Lewis RE (2009).** Overview of the changing epidemiology of candidemia. *Curr. Med. Res. Opin.*, **25(7)**, 1732-1740.

**Lodder J (1979).** The Yeasts, A Taxonomic Study. Amsterdam, North Holland Publ Co

**Menezes EA, Guerra ACP, Rodrigues RCB, Peixoto MMV, LIMA LS, CUNHA FA (2004).** Isolamento de *Candida* no mamilo de lactantes do Banco de Leite Humano da Universidade Federal do Ceará e teste de susceptibilidade a antifúngicos. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, **40**, 299-305..

**Merz WG, Khazan U, Jabra-Rizk MA, Wu LC, Osterhout GJ, Lehmann PF (1992).** Strain delineation and epidemiology of *Candida (Clavispora) lusitaniae*. *J. Clin. Microbiol.*, **30**, 449-454.

**Mhone TA, Matope G, Saidi PT (2012).** Detection of *Salmonella* spp., *Candida albicans*, *Aspergillus* spp., and antimicrobial residues in raw and processed cow milk from selected smallholder farms of Zimbabwe. *Veterinary medicine international*.

**Milner RJ, Picard J, Tustin R (1997).** Chronic episodic diarrhoea associated with apparent intestinal colonisation by the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida famata* in a German shepherd dog. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, **68**, 147-149.

**Moretti, A, Pasquali P, Mencaroni G, Boncio L, Fioretti DP (1998).** Relationship between cell counts in bovine milk and the presence of mastitis pathogens (yeasts and bacteria). *J. Vet. Med.*, **45(1-10)**, 129-132.

**Mousa W, Elmonir W, Abdeen (2016).** Molecular typing, virulence genes and potential public health implications of *Candida albicans* isolated from bovine milk. *Jpn. J. Vet. Res.*, **64**, 211-215.

**Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B (2003).** *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **67(3)**, 400-428.

**Neppelenbroek KH, Seó RS, Urban VM, Silva S, Dovigo LN, Jorge JH, Campanha NH (2014).** Identification of *Candida* species in the clinical laboratory: a review of conventional, commercial, and molecular techniques. *Oral. Dis.*, **20(4)**, 329-344.

**Neto MM, Costa RS, Reis MA, Garcia TMP, Ferraz AS, Saber LTS, Batista MN, Muglia V, Figueiredo JC (1997).** Candidíase em pacientes transplantados renais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **30**, 485-491.

**Nicholls S, MacCallum DM, Kaffarnik FA, Selway L, Peck SC, Brown AJ (2011).** Activation of the heat shock transcription factor Hsf1 is essential for the full virulence of the fungal pathogen *Candida albicans*. *Fungal. Genet. Biol.*, **48(3)**, 297-305.

**Nissapatorn V, Le C, Fatt SK, Abdullah KA (2003).** AIDS was associated with opportunistic infections in Hospital Kuala Lumpur. *Jpn. J. Infect. Dis.*, **56**, 187-192.

**Nobile CJ, Bruno VM, Richard ML, Davis DA, Mitchell AP (2003).** Genetic control of chlamydospore formation in *Candida albicans*. *Microbiol.*, **149(12)**, 3629-3637.

**Nucci M, Queiroz-Telles F, Tobón AM, Restrepo A, Colombo A L (2010).** Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. *Clin. Infect. Dis.*, **51(5)**, 561-570.

**Öztürk N, Şahin İ (2000).** Salamura beyaz peynirlerde bozulmaya neden olan mayaların tanımlanması. In: Demirci M, ed. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Kitabı; 21-22 Mayıs; Tekirdağ. S: 126.

**Özyurtlu N (2011).** İneklerde Mastitisin Ekonomik ve Sağlık Açısından Önemi. *Dicle Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **5**, 36-38

**Pagano L, Caira M, Candoni A, Offidani M, Fianchi L, Martino B, Pastore D, Picardi M, Bonini A, Chierichini A, Fanci R, Caramatti C, Invernizzi R, Mattei D, Mitra ME, Melillo L, Aversa F, Van Lint MT, Falcucci P, Valentini CG, Girmenia C, Nosari A (2006).** The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica*, **91(8)**, 1068-1075.

**Pappas PG (2006).** Invasive candidiasis. *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, **20(3)**, 485-506.

**Patton, S, Keenan TW (1975).** The milk fat globule membrane. *Biochim. Biophys. Acta.*, **415(3)**, 273-309.

**Pemán J, Jarque I, Bosch M, Cantón E, Salavert M, de Llanos R, Molina A (2006).** Spondylodiscitis caused by *Candida krusei*: case report and susceptibility patterns. *J. Clin. Microbiol.*, **44(5)**, 1912-1914.

**Pfaller MA (1996).** Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. *Clinical infectious diseases*, **22(Supplement\_2)**, S89-S94.

**Pfaller MA, Diekema DJ (2007).** Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin. Microbiol. Rev.*, **20(1)**, 133-163.

**Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Nagy E, Dobiasova S, Veselov A (2008).** Global Antifungal Surveillance Group *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol*, **46(2)**, 515-521.

**Pfaller MA, Moet GJ, Messer SA, Jones RN, Castanheira M (2011).** Geographic variations in species distribution and echinocandin and azole antifungal resistance rates among *Candida* bloodstream infection isolates: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008 to 2009). *J. Clin. Microbiol.*, **49(1)**, 396-399.

**Pınar AYTÖP (2012).** Çiğ Sütten İzole Edilen Mayalarda Biyofilm Ve Bazı Enzimlerinin Araştırılması. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara/Türkiye*

**Pincus DH, Orenga S, Chatellier S (2007).** Yeast identification past, present, and future methods. *Med. Mycol.*, **45(2)**, 97-121.

**Pires-Gonçalves RH, Miranda ET, Baeza LC, Matsumoto MT, Zaia JE, Mendes-Giannini MJS (2007).** Genetic relatedness of commensal strains of *Candida albicans* carried in the oral cavity of patients' dental prosthesis users in Brazil. *Mycopathologia.*, **164(6)**, 255-263.

**Halkman K (2012).** *Gıda Kaynaklı Mikrobiyolojik Hastalıklar* (Ders notları) <https://studylibtr.com/doc/888200/01.-g%C4%B1da-kaynakl%C4%B1-mikrobiyolojik-hastal%C4%B1klar> (Erişim tarihi: 01.09.2019)

**Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Hartigan P, Fanning S, Fitzpatrick ES (2011).** *Veterinary Microbiology and Microbial Diseases*, 2nd ed, United State;, John Wiley and Sons Ltd, p: 413-483.

**Rajendra J. Kothavade, 1 M. M. Kura, 2 Arvind G. Valand3 ve M. H. Panthaki4 (2010).** *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increased resistance to fluconazole. *Journal of Medical Microbiology*, 59, 873 DO880 DOI 10.1099 / jmm.0.013227-0

**Ramage G, Martinez JP, Lopez-Ribot JL (2006).** *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS. Yeast. Res.*, **6**, 979–986.

**Rocha da Silva C, Ferreira Magalhães HI, de Moraes DM, Nobre Júnior HV (2013).** Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Ceará, Fortaleza, CE Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol.46 no.2 Uberaba ILaboratório de Bioprospecção e Experimentação em Leveduras.

**Sahal G, Bilkay IS (2018).** Distribution of clinical isolates of *Candida* and antifungal susceptibility of high biofilm-forming *Candida* isolates. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **51(5)**, 644-650.

**Sanglard D, Odds FC (2002).** Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet. Infect. Dis.*, **2(2)**, 73-85.

**Sardi JCO, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Giannini MM (2013).** *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J. Med. Microbiol.*, **62(1)**, 10-24.

**Silva S, Henriques M, Martins A, Oliveira R, Williams D, Azeredo J (2009a).** Biofilms of non-*Candida albicans* *Candida* species: quantification, structure and matrix composition. *Med. Mycol.*, **47**, 681–689.

**Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J (2012).** *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS microbiol. Rev.*, **36(2)**, 288-305.

**Stefanetti V, Marenzoni ML, Lepri E, Coletti M, Casagrande Proietti P, Agnetti F, Crotti S, Pitzurra L, Del Sero A, Passamonti F (2014).** A case of *Candida guilliermondii* abortion in an Arab mare. *Med. Mycol. Case. Rep.*, **3**, 19-22

**Stehr F, Felk A, Kretschmar M, Schaller M, Schäfer W, Hube B (2000).** Extracellular hydrolytic enzymes and their relevance during *Candida albicans* infections. *Mycoses.*, **43**, 17-21.

**Şeker E (2010).** Identification of *Candida* species isolated from bovine mastitic milk and their in vitro hemolytic activity in Western Turkey. *Mycopathologia.*, **169**, 303-308.

**Şeker E, Özenç E (2011).** In vitro biofilm activity of *Candida* species isolated from Anatolian buffaloes with mastitis in Western Turkey. *Vet Arhiv.*, **81**, 723-730.

**Tekinşen C, Nizamlıoğlu CM (2001).** Süt kimyası.1.Baskı: Selcuk Üniversitesi Vakfı Yayınları s:1

**Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillot R.(2006).** *Candidaemia* in Europe: epidemiology and resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **27(5)**, 359-66.

**Trofa D, Gacser A, Nosanchuk JD (2008).** *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.*, **21**, 606-625.

**Turner SA, Butler G (2014).** The *Candida* pathogenic species complex. *Cold. Spring. Harb. Perspect. Med.*, **4(9)**, a019778.

**Tümbay E (1999).** *Kandida türleri*. In: Ustaçelebi Ş (ed) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Güneş Kitabevi, Ankara, pp:1081-1085.

**Ünlütürk A (1998).** Süt ve Süt Ürünlerinde Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar ve Muhafaza Yöntemleri: Ünlütürk A, Turantaş F. eds. *Gıda Mikrobiyolojisi*. 1. Baskı. İzmir: Mengi tan Basımevi, 289-307.

**Vazquez JA, Dembry LM, Sanchez V, Vazquez MA, Sobel JD, Dmuchowski C, Zervos MJ (1998).** Nosocomial *Candida glabrata* colonization: an epidemiologic study. *J. Clin. Microbiol.*, **36**, 421-426.

**Velasco MC (2000).** Candidiasis and Cryptococcosis in birds. *Semin. Avian. Exot. Pet. Med.*, **9**, 75-81.

**Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, Collette L, Martino P, Vandercam B, De Pauw B (1999).** Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin. Infect. Dis.*, **28(5)**, 1071-1079.

**Voss A, Kluytmans JAJW, Koeleman, JGM, Spanjaard L, Vandenbroucke-Grauls C M. JE, Verbrugh HA, Meis JFGM (1996).** Occurrence of yeast

bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **15**(12), 909-912.

**Webb BC, Thomas CJ, Willcox MDP, Harty DWS, Knox KW (1998).** Candida-associated denture stoma titis. Aetiology and management: A review. Part 2. Oral diseases caused by candida species. *Aust. Dent. J.*, **43**(3), 160-166.

**Wingard J, Merz W, Saral R (1979).** *Candida tropicalis*: a major pathogen in immunocompromised patients. *Ann. Intern. Med.*, **91**, 529-543.

**Wingard JR, Merz WG, Rinaldi G, Johnson TR, Karp JE, Saral R (1991).** Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *N. Engl. J. Med.*, **18**, 1274-1277.

**Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB (2004).** Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin. Infect. Dis.*, **39**(3), 309-317.

**Yapar N (2014).** Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Ther. Clin. Risk. Manag.*, **10**, 95-105.

**Yeğenoğlu Y (2002)** Candida İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi. *Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu, Türk Mikrobiyol.*, **43**, 55-62.

**Yoshio O, Kouji G (2006).** Antigenicity of *Candida tropicalis* strain cells cultured at 27 and 37°C. *FEMS Immunol. Med. Mic.*, **46**, 438-443.

**Younis G, Awad A, Dawod RE, Yousef NE (2017).** Antimicrobial activity of yeasts against some pathogenic bacteria. *Vet. World.*, **10**(8), 979-983.

**Yurdakul Ö, Keyvan E, Ersoy T (2016).** Burdur Halk Pazarlarından Toplanan Beyaz Peynirlerde Patojen *Candida* Varlığının Belirlenmesi. *Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, **27**(2), 88-92.

**Yücel A (1999).** Medical mycology: *Yesterday and Today*. *Cerrahpaşa J. Med.*, **30**(2), 191-198.

**Yücel A, Kantarcıoğlu S (1999).** Some important changes in taxonomy of *Candida albicans*. *Cerrahpaşa. J. Med.*, **30**(3), 236-246.

**Yücel A, Kantarcıoğlu S (2000).** Some important changes in taxonomy of *Candida albicans*. *Cerrahpaşa. J. Med.*, **30**, 236-246.

**Yücel A (1987).** Tıp Bakımından Önemli *Candida* Türlerinin Mikoloji. *Türk Mikrobiyoloji sarCem Derg.*, **17**, 45-59.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Mümine Tuğçe ZENGİN

Doğum Yeri ve Yılı : Isparta 20.01.1992

Medeni Hali : Bekar

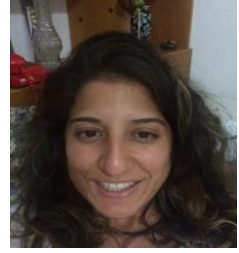
Yabancı Dili : İngilizce

Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti

Elektronik Posta : tugcezengin32@gmail.com

İletişim Adresi : Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Burdur

Telefon : 05066932493



Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lise: Halıkent Lisesi - 2010

Lisans: Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi - 2016

Yüksek Lisans: Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Hayvansal Ürünler Hijyen ve Teknolojisi Anabilim Dalı – Devam Ediyor

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1.ADA Veteriner Kliniği /Ocak 2018 – Mayıs 2019