

Geliş Tarihi: 16.03.1999

## Van'da Tüketime Sunulan Bazı Gıda Maddelerinde *Bacillus cereus*'un Varlığı

Sema AĞAOĞLU<sup>(1)</sup>

Kamil EKİCİ<sup>(1)</sup>

Süleyman ALEMDAR<sup>(1)</sup>

**Özet:** Bu çalışmada Van piyasasında tüketime sunulan bazı gıda maddelerinde (tatlı çeşitleri, paket çorba, paket toz dondurma, tatlilik ve baklagiller) *Bacillus cereus*'un varlığı araştırıldı. Çalışmada toplam 270 örnek materyal olarak kullanıldı. Mikrobiyolojik analizler sonucunda örneklerin %8.5'dan *Bacillus cereus* izole ve identifiye edildi. *Bacillus cereus* sayısı pudinge  $1.0 \times 10^2$ - $2.3 \times 10^4$  cfu/g, sütlükta  $4.0 \times 10^2$ - $1.6 \times 10^3$  cfu/g, yaş pastada  $2.0 \times 10^2$ - $6.0 \times 10^3$  cfu/g, yayla çorbاسında  $1.0 \times 10^2$  cfu/g, nohutta  $1.0 \times 10^2$ - $5.0 \times 10^3$  cfu/g, kırmızı mercimekte  $1.0 \times 10^2$ - $3.2 \times 10^2$  cfu/g, bulgurda  $3.8 \times 10^3$ - $2.5 \times 10^4$  cfu/g ve misirda  $2.0 \times 10^2$ - $3.6 \times 10^3$  cfu/g değerleri arasında saptandı.

Sonuç olarak, *Bacillus cereus* ile kontaminasyon oranı tatlı çeşitlerinde %14, paket çorbalarda %1.1, tatlilik ve baklagillerde %18.7 olarak belirlendi. İncelenen paket toz dondurma örneklerinin hiçbirinden *Bacillus cereus* izole edilemedi.

**Anahtar kelimeler:** *Bacillus cereus*, Tatlı, Paket Çorba, Tatlilik, Baklagil ve Paket Toz Dondurma

### The Existence of *Bacillus cereus* in Some Foods Sold in Van

**Abstract:** This study was performed to investigate the existence of *Bacillus cereus* in some foods (sweets, packed soups, packed powder ice cream, pulse and cereals,) sold in Van. In this study totally 270 samples were used as materials. The results of microbiological analyses, *Bacillus cereus* was isolated and identified from 8.5% of samples. *Bacillus cereus* count was  $1.0 \times 10^2$ - $2.3 \times 10^4$  cfu/g in pudding,  $4.0 \times 10^2$ - $1.6 \times 10^3$  cfu/g in rice milk,  $2.0 \times 10^2$ - $6.0 \times 10^3$  cfu/g in cream pastry,  $1.0 \times 10^2$  cfu/g in highland soup,  $1.0 \times 10^2$ - $5.0 \times 10^3$  cfu/g in chickpea,  $1.0 \times 10^2$ - $3.2 \times 10^2$  cfu/g in red lentil,  $3.8 \times 10^3$ - $2.5 \times 10^4$  cfu/g in boiled and pounded wheat and  $2.0 \times 10^2$ - $3.6 \times 10^3$  cfu/g in corn. In conclusion the rate of the contamination with *Bacillus cereus* 14% of sweets, 1.1% of packed soups, 18.7% of pulse and cereals. *Bacillus cereus* was isolated none of the packed powder ice cream samples.

**Key words:** *Bacillus cereus*, Sweet, Packed Soup, Pulse, Cereal, Packed Powder Ice Cream

### Giriş

Son yıllarda hazır gıda sanayinin gelişmesine bağlı olarak, gıda kaynaklı zehirlenmelerin sayısında önemli artışlar olduğu dikkati çekmektedir. Bu zehirlenmelerden *Bacillus cereus*'un neden olduğu olgulara sıkılıkla rastlandığı bildirilmiştir (Gilbert ve Parry, 1977; Terranova ve Blake, 1978; Bergdoll, 1981; Quinn ve ark., 1994). 1982-1987 yılları arasında değişik Avrupa ülkelerinde 461 kişinin etkilendiği *Bacillus cereus* kaynaklı 24 salgın rapor edilmiştir (Anonim, 1986a; Anonim, 1986b; Anonim, 1990a). Dünya sağlık merkezinin kayıtlarına (Kramer ve ark., 1989; Drobiewski, 1993) göre bu yıllarda ABD ve İngiltere'de ortaya çıkan salgılarda *Bacillus cereus*'un payının % 1-3 arasında olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Hollanda'da rapor edilen gıda zehirlenmesi olgularının % 22'nin ve Kanada'daki salgınların % 7'nin *Bacillus cereus*'tan kaynaklandığı ortaya konmuştur. *Bacillus cereus*, insanlarda intoksikasyon şeklinde gıda zehirlenmesine neden olan, gram (+), sporlu, aerob ve fakultatif anaerob özellikle bir bakteridir. *Bacillus cereus* kaynaklı gıda zehirlenmelerinde, ısıya duyarlılıklarını farklı iki tip

enterotoksin (emetik ve diyarejenik tip) etkili olmaktadır (Quinn ve ark., 1994).

Yapılan çalışmalar (Akimov, 1969; Delazari ve ark., 1978; El-Sherbeeny ve ark., 1985; Rodriguez ve Barrett, 1986; Warburton, 1987; Hostacka ve Majtan, 1992; Quinn ve ark., 1994; Van Netten ve ark., 1990) *Bacillus cereus*'un pırıncı, pırıngle hazırlanan gıdalar, süt ve süt ürünleri, süt tozu, dondurma, toz dondurma, tatlilar, puding, krem pasta, çeşitli çorbalardır, tatlilik, baklagil ve baharat gibi çeşitli gıda maddelerinden izole edildiği bildirilmiştir.

Van Netten ve ark. (1990) yaptıkları çalışmada *Bacillus cereus*'u kurutulmuş çorbalarda % 3, krem pastada % 11 ( $10^3$  cfu/g) oranında saptadıklarını bildirmiştirlerdir. Akimov (1969) pasta ve şekerleme ürünlerinde *Bacillus cereus* oranını % 6.7 olarak saptamıştır. Blakey ve Priest (1980) çeşitli tatlilik ve baklagil örneklerinin % 56'ndan *Bacillus cereus* izole ettilerini bildirmiştirlerdir. Harmon ve ark. (1997) tatlilik ve baklagil tohumlarında % 57 oranında *Bacillus cereus* tespit etmişlerdir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarında (Kaymaz, 1987; Tuncer ve ark., 1987; Yumuşak ve Küçükayan, 1995) çığ ve pişirilmiş hamburgerlerde % 4.5, değişik firmalara ait yerli ve yabancı çocuk mamalarında % 18 ve mastitisli inek sütlerinde % 1.1 oranında *Bacillus cereus* izole edilmiştir. Aksu (1994) konu ile ilgili olarak yaptığı çalışmada, dondurulmuş gıdaların % 2.7'den, hazır paket çorbaların % 18.6'dan, pastane ürünlerinin % 7.0'den ve hazır yemeklerin % 10'dan *Bacillus cereus* izole ettiğini bildirmiştir. Ayrıca paket çorba ve yaş pasta örneklerinde (% 4) *Bacillus cereus* ile kontaminasyon düzeyi  $10^2$  kob/g olarak belirlenmiştir. Türkiye'de bugüne kadar *Bacillus cereus* kaynaklı sadece 1 zehirlenme olgusu bildirilmiştir (İnal, 1969).

Gıda Maddeleri Tüzüğü (Anonim, 1952) ve Türk Standartlarında (Anonim, 1979; Anonim, 1982a; Anonim, 1982b; Anonim, 1982c; Anonim, 1986c; Anonim, 1990b; Anonim, 1991; Anonim, 1995) hazır kuru çorbalar hariç, incelenen diğer gıda maddelerinde *Bacillus cereus* düzeyi ile ilgili bir hüküm bulunmamaktadır. Bu çalışma, Van'da tüketime sunulan bazı gıda maddelerinde (tatlı çeşitleri, paket çorba, tahlil ve baklagiller, paket toz dondurma) *Bacillus cereus*'un varlığını belirlemek amacıyla ele alınmıştır.

### Materyal ve Yöntem

Çalışmada materyal olarak, Van piyasasından sağlanan 50 adet tatlı çeşidi (baklava, tulumba, puding, sütlâç ve yaş pasta), üç ayrı firmaya ait 90 adet paket çorba (mantar, tarhana, ezogelin, mercimek, yayla, iştikembe, domates, tavuk ve sebze çorbası), 80 adet tahlil ve baklagıl (pirinç, nohut, kırmızı mercimek, yeşil mercimek, büğday, fasulye, bulgur ve misir) ve 50 adet paket toz dondurma (çilekli, kakaolu, limonlu, vanilyalı ve vişneli) olmak üzere toplam 270 örnek kullanıldı. Örnek almısında Türk Standartlarında (Anonim, 1979; Anonim, 1982a; Anonim, 1982b; Anonim, 1982c; Anonim, 1986c; Anonim, 1991; Anonim, 1995) bildirilen kurallar uygulandı. Paket çorba ve toz dondurma örnekleri, orijinal ambalajlarıyla ve son kullanma tarihlerine dikkat edilerek; tahlil ve baklagiller, değişik bakkal ve marketlerden 150-200 g miktarında ve tüketiciye sunuldukları şekilde sağlandı. Tatlı çeşitleri ise değişik semtlerdeki pastanelerden hijyenik koşullarda alındı ve buz destekli steril cam kavanozlar içerisinde laboratuvara getirilerek, aynı gün mikrobiyolojik analizlere başlandı. Çalışmada *Bacillus cereus* standart suyu (ATCC 11778) kullanıldı.

### Mikrobiyolojik Analizler

#### *Bacillus cereus* sayısı

*Bacillus cereus* sayısının belirlenmesinde Cereus Selective Agar (Merck 1.05267) kullanıldı. Bu besiyerine *Bacillus cereus* Selective Supplement (Merck 1.09875.000), Egg Yolk Tellurite Emulsion (Merck 1.03785) ve Polymyxine B Sulfate (Sigma P. 1004) ilave edildi. Hazırlanan besiyeri önce *Bacillus cereus* standart suyu (ATCC 11778) ile inoküle edilerek üretim potansiyeli kontrol edildi. Daha sonra laboratuvara aseptik koşullar altında 10 gram örnek 90 ml peptonlu su (% 0.1'lik) ile homojenize edildi. Hazırlanan bu dilüsyondan (1:10) aynı seyrelticile örneklerin  $10^4$ 'e kadar dilüsyonları hazırlandı. Uygun dilüsyonlardan 0.1 ml kullanarak önceden hazırlanan katı besi yerlerine yüzeye yayma yöntemiyle çift paralelli ekmeler yapıldı (Holbrook ve Anderson, 1980; Anonim, 1996). Plaklar  $37^\circ\text{C}$  'de 24 saat inkübe edildikten sonra gram +, katalaz+, indol -, Vogesproskauer +, Cereus Selective Agar'da tipik *Bacillus cereus* görünümü (düzensiz kenarlı, iri, turkuaz mavisi renginde ve etrafı yumurta sarısı presipitat ile çevrili) veren kolonilere BBL Crystal Panelde (Gram-Positive ID system / GP) biyokimyasal testler uygulandı. Bu testler sonucunda; trehaloz+, arabinoz-, üreaz+, laktoz-, mannosid-, gliserol-, eskulin+, maltoz+, fruktoz+ ve arjinin+suşlar *Bacillus cereus* olarak identifiye edildi (Kramer ve ark., 1982; Anonim, 1996). Örneklerdeki *Bacillus cereus* sayısı, dilüsyon faktörü gözönüne alınarak, basit oranlama yoluyla hesaplandı (Anonim, 1996).

### Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada Van'da tüketime sunulan bazı gıda maddelerinde (tatlı çeşitleri, paket çorba, paket toz dondurma, tahlil ve baklagiller) *Bacillus cereus*'un varlığı araştırıldı.

Mikrobiyolojik analizler sonucunda, incelenen örneklerin % 8.5'dan *Bacillus cereus* izole ve identifiye edildi (Çizelge 1).

*Bacillus cereus* ile kontaminasyon oranı tatlı çeşitlerinden pudingte % 30 ( $1.0 \times 10^2$ - $2.3 \times 10^4$  kob/g), sütlâçta ( $4.0 \times 10^2$ - $1.6 \times 10^3$  kob/g) ve yaş pasta ( $2.0 \times 10^2$ - $6.0 \times 10^3$  kob/g) % 20 olarak belirlenmesine karşın, baklava ve tulumba örneklerinden *Bacillus cereus* izole edilemedi. Yaş pasta örneklerinde belirlenen kontaminasyon oranı bazi araştırmacıların (Akimov, 1969; Van Netten ve ark., 1990; Aksu, 1994) bildirimlerinden farklılık göstermektedir. Bu farklılığın, hammaddenin hijyenik kalitesi personel hijyenî ve muhafaza koşullarından kaynaklandığı söylenebilir.

**Çizelge 1.** Van'da tüketime sunulan bazı gıda maddelerinde *Bacillus cereus*'un varlığı

	Gıda çeşidi	n	Gıda çeşidine göre pozitif örnek sayısı ve oranı	Ömek sayısına göre kontaminasyon düzeyi		
				$10^2$	$10^3$	$10^4$
Tatlı çeşitleri	Baklava	10	0 (%0)	-	-	-
	Tulumba	10	0 (%0)	-	-	-
	Puding	10	3 (%30)	1	-	2
	Sütläç	10	2 (%20)	1	1	-
	Yaş pasta	10	2 (%20)	1	1	-
Paket çorbalar	Mantar çorbası	10	0 (%0)	-	-	-
	Tarhana çorbası	10	0 (%0)	-	-	-
	Ezogelin çorbası	10	0 (%0)	-	-	-
	Tavuk çorbası	10	0 (%0)	-	-	-
	Mercimek çorbası	10	0 (%0)	-	-	-
	İşkembe çorbası	10	0 (%0)	-	-	-
	Yayla çorbası	10	1 (10)	1	-	-
	Domates çorbası	10	0 (%0)	-	-	-
	Sebze çorbası	10	0 (%0)	-	-	-
Tahıl ve baklagiller	Pirinç	10	0 (%0)	-	-	-
	Nohut	10	4 (%40)	2	1	
	Kırmızı mercimek	10	3 (%30)	3		
	Yeşil mercimek	10	0 (%0)	-	-	-
	Buğday	10	0 (%0)	-	-	-
	Fasulye	10	0 (%0)	-	-	-
	Bulgur	10	5 (50)	-	2	3
Paket toz dondurma	Mısır	10	3 (%30)	1	2	-
	Çilekli	10	0 (%0)	-	-	-
	Kakaolu	10	0 (%0)	-	-	-
	Limonlu	10	0 (%0)	-	-	-
	Vanilyalı	10	0 (%0)	-	-	-
	Vişneli	10	0 (%0)	-	-	-

İncelenen paket toz dondurmaların hiçbirinde *Bacillus cereus* saptanmadı. Bu durum üretimde uygulanan hijyenik ve teknolojik işlemlerin uygunluğu ve prezervatif madde kullanımı ile açıklanabilir.

Analizleri yapılan tahıl ve baklagillerin % 18.7'nden *Bacillus cereus* izole ve identifiye edildi. *Bacillus cereus* sayısı nohutta  $1.0 \times 10^2$ - $5.0 \times 10^3$  kob/g, kırmızı mercimekte  $1.0 \times 10^2$ - $3.2 \times 10^2$  kob/g, bulgurda  $3.8 \times 10^3$ - $2.5 \times 10^4$  kob/g ve mısırda  $2.0 \times 10^2$ - $3.6 \times 10^3$  kob/g değerleri arasında belirlendi. Ayrıca bulgurun *Bacillus cereus* yönünden en kontamine materyal olduğu belirlendi. Elde edilen bu değerler bazı araştırmacıların (Blakey ve Priest, 1980; Harmon ve ark., 1997) bulgularıyla paralellik göstermemektedir. Bu durum örnek çeşidi ve kaynağının farklı olmasına açıklanabilir.

İncelenen tahıl ve baklagillerden pirinç, yeşil mercimek, buğday ve fasulye örneklerinde *Bacillus cereus* izole edilemedi.

Araştırmada elde edilen bulgulara göre; *Bacillus cereus* ile kontaminasyon oranı tatlılarda % 14, paket çorbalarda % 1.1, tahıl ve baklagillerde % 18.7 ve paket toz

dondurmada % 0 olarak belirlendi.

Sonuç olarak, analizi yapılan gıda maddelerinden tatlı çeşitlerinin *Bacillus cereus* ile kontaminasyon düzeyi halkın sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceğinden, bu mamülün hijyenik koşullarda üretilip kısa sürede tüketime sunulması ve konu ile ilgili standardın hazırlanması yararlı olacaktır.

## Kaynaklar

- Akimov, A. M., 1969. Contamination of various food products with *Bacillus cereus*. Gigiena San., 34 (6): 109-111, *Cited in Abstr.*, No. 69-10-C1448.
- Aksu, H., 1994. *Ülkemizde Tüketime Sunulan Çeşitli Hazır Gidalarda Bacillus cereus'un Varlığı ve Önemi*. Doktora Tezi, İ.Ü. Sağ. Bil. Ens. Besin Hijyenî ve Teknolojis Anabilim Dalı, İstanbul.
- Anonim, 1952. *SSYB Bakanlığı. Gıda Maddelerinin Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük*. Yayın No: 161, SSB, Ankara.
- Anonim, 1979. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Mısır*, TS 3415/Nisan 1979, Ankara.
- Anonim, 1982a. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Mercimek (Kabuklu ve İğe)*, TS 143/Aralık 1982, Ankara.
- Anonim, 1982b. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Nohut*, TS 142/Kasım 1982, Ankara.
- Anonim, 1982c. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Fasulye*, TS 141/Kasım 1982, Ankara.
- Anonim, 1986a. (CDC) Centers for disease control : Surveillance Summaries 35.
- Anonim, 1986b. Centers for disease control: *Bacillus cereus* Maine. MMWR, 35. 408-410.
- Anonim, 1986c. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Pirinç*, TS 2408/Nisan 1986, Ankara.
- Anonim, 1990a. (CDC) Centers for disease control : Surveillance Summaries March 1990 MMWR, 39 (SS-1).
- Anonim, 1990b. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Toz Puding*, TS 7998/Şubat 1990, Ankara.
- Anonim, 1991. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Bulgur*, TS 2284/Nisan 1991, Ankara.
- Anonim, 1995. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Hazır Kuru Çorbalık*, TS 3190/Nisan 1995, Ankara.
- Anonim, 1996. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Mikrobiyoloji-Bacillus cereus Sayımı İçin Genel Kurallar (30°C'de Koloni Sayım Tekniği)*, TS 6404, ISO 7932, Ankara.
- Bergdoll, M.S., 1981. *Bacillus cereus* foodborne disease. *Clin. Microbiol. Newslett.*, 3: 85 - 87.
- Blakey, L.J. and F.G. Priest, 1980. The occurrence of *Bacillus cereus* in some dried foods including pulses

- and cereals. *J. Applied Bact.*, 48: 297 – 302.
- Delazari, I., M.F. Freitas-leitão, A.M. Geraldini, and M.N. Kiroa, 1978. *Bacillus cereus* in dried foods. *Bol. Inst. Tecno. Alimentos. Brazil.* 60:31-40, Cited in Abstr. No: 80 – 05 – C 0244.
- Drobniewski, F.A., 1993. *Bacillus cereus* and related species. *Clin. Microbiol. Rev.*, 6 : 324-338.
- El-Sherbeeny, M.R., M.F. Saddik, S. Aly, Fahmi-M.Saddik and El-Sait-H. Aly, 1986. Microbiological profile and storage temperatures of Egyptian rice dishes. *J. Food Prot.*, 48 (1): 39 – 43, (1985). Cited in Cab Abstr., 1984 - 1986, Cab: 7L Int., Biodeterioration, 022 - 00070.
- Gilbert, R. J. and J.M. Parry, 1977. Serotypes of *Bacillus cereus* from out breaks of food poisoning and from routine foods. *J. Hyg.*, 78: 69 - 74.
- Harmon, S. M., D.A. Kautter, and H.M. Solomon, 1997. *Bacillus cereus* contamination of seeds and vegetable sprouts grown in a home sprouting kit. *J. Food Prot.*, 50 (1): 62 – 65.
- Holbrook, R. and J.M. Anderson, 1980. An improved selective and diagnostic medium for the isolation and enumeration of *Bacillus cereus* in foods. *Can. J. Microbiol.*, 26: 753 – 759.
- Hostacka, A. and V. Majtan, 1992. *Toxic Activity of Bacillus cereus Strains Isolated From Ice Cream. (3rd World Congress. Foodborne Infections and Intoxications.* Vol. 2. p. 1166-1169, 16-19 June, Berlin.
- İnal, T., 1969. İzmir Bölgesinde *Bacillus cereus*'un sebep olduğu bir zehirlenme vakası. *Bornova Vet. Arş. Enst. Derg.*, 19 (10): 1-5.
- Kaymaz, Ş., 1987. Ankara'da tüketime sunulan hamburgerlerde halk sağlığı yönünden bazı bakterilerin saptanması. *AÜ Vet. Fak. Derg.*, 34 (3): 577 – 593.
- Kramer, J.M., P.C.B. Turnbull, G. Munshi, and R.J. Gilbert, 1982. *Identification and Characterization of Bacillus cereus and Other Bacillus Species Associated With Foods and Food Poisoning. (Isolation and Identification Methods For Food Poisoning Organisms. (Ed. J. Corry, D.Roberts, F.A., Skinner)* The Society For Applied Bact. Tech. Series. Academic Press, Inc., 17, 261-286.
- Kramer, J.M., P.C.B. Turnbul, G. Munsh and R.J. Gilbert, 1989. *Bacillus cereus and Other Bacillus Species in Doyle.* M.P. (Ed.) Foodborne bacterial pathogens, pp. 21-70, Marcel Decker, New York.
- Quinn, P.J., M.E. Carter, B.K. Markey and G.R. Carter, 1994. *Clinical Veterinary Microbiology.* Published in 1994 by Wolfe Publishing an imprint of Mosby-Yearbook Europe limited printed in Spain by Grafos, S.A. Arte Sobre papel. 356-357.
- Rodriquez, M.H. and E.I. Barrett, 1986. Changes in microbial population and growth of *Bacillus cereus* during storage of reconstituted dry milk. *J. Food Prot.*, 49 (9) : 680-686.
- Terranova, W. and P.A. Blake, 1978. *Bacillus cereus* food poisoning. *N. Engl. J. Med.*, 298: 143 – 144.
- Tuncer, T., U. Çiftçi, ve M. Aydın, 1987. Çocuk mamalarında *Bacillus cereus* araştırılması. *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.*, 44 (1): 27 – 35.
- Van Netten, P., A. Van de Moosdijk, P. Van Hoensel, D.A. Mossel and I. Perales, 1990. Psychrotrophic strains of *Bacillus cereus* producing enterotoxin. *J. App. Bact.*, 69: 73 – 79.
- Warburton, D.W., P.I. Peterkin, G.A. Jarvis, K.F. Weiss and G. Riedel, 1987. Microbiological quality of dry dessert mixes sold in Canada. *J. Food Prot.*, 50 (2): 136-140.
- Yumuşak, M. ve U. Küçükayan, 1995. Ankara Bölgesi'ndeki mastitisli inek sütlerinde *Bacillus cereus* aranması. *Etlik Vet. Mikrob. Derg.*, 8 (1): 195 – 217.