

Geliş Tarihi: 16.03.1999

## Çiğ Süt ve Bazı Süt Ürünlerinde *Bacillus cereus*'un Varlığının Araştırılması

Sema AĞAOĞLU<sup>(1)</sup>

Süleyman ALEMDAR<sup>(1)</sup>

Kamil EKİCİ<sup>(1)</sup>

Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU<sup>(2)</sup>

**Özet:** Bu çalışma, Van'da tüketime sunulan çiğ süt, otlu peynir ve tereyağlarında *Bacillus cereus*'un varlığını belirlemek amacıyla yapıldı. Çalışmada materyal olarak 40 adet çiğ süt, 75 adet otlu peynir ve 25 adet tereyağı olmak üzere toplam 140 örnek materyal olarak kullanıldı. Sonuç olarak, çiğ süt örneklerinin %10'unda (4 örnek)  $1.0 \times 10^2 - 2.8 \times 10^4$  kob/ml, otlu peynirlerin %1.3'ünde (1 örnek)  $9.0 \times 10^2$  kob/g düzeyinde *Bacillus cereus* izole ve identifiye edildi. Tereyağı örneklerinin hiçbirinden *Bacillus cereus* izole edilemedi.

**Anahtar kelimeler :** *Bacillus cereus*, Çiğ süt, Otlu peynir ve Tereyağı.

### Investigation of Existence of *Bacillus cereus* in Raw Milk and Some Milk Product

**Abstract:** This study was performed to investigate the existence of *Bacillus cereus* in raw milk, herby cheese and butter samples sold in Van. In this study, 40 raw milk, 75 herby cheese and 25 butter samples in total of 140 samples were used as material. In conclusion, it was isolated and identified the level of *Bacillus cereus* in raw milk samples 10 % (4 samples)  $1.0 \times 10^2 - 2.8 \times 10^4$  cfu/ml, in herby cheese 1.3 % (1 sample)  $9.0 \times 10^2$  cfu/g. *Bacillus cereus* was isolated in none of the butter samples.

**Key words:** *Bacillus cereus*, Raw milk, Herby cheese and Butter.

### Giriş

*Bacillus cereus*, *Bacillaceae* familyasının *Bacillus* cinsine ait, gram +, sporlu, iki farklı tipte (emetik ve diyarejenik) enterotoksin üreten, aerob ve fakültatif anaerob bir bakteridir (Quinn ve ark., 1994). Sporları pastörizasyon işlemine (63°C de 30 dakika) dayanıklı olduğundan, bu sütlerin oda sıcaklığında bozulmasında önemli bir etkidir (Bilgehan, 1992). Bazı araştırmacılar (Bergdoll, 1981; Jones ve Turnbull, 1981; Bodnar ve Nikodemusz, 1982; Fricchione ve ark., 1991; Bilgehan, 1992; Steen ve ark., 1992; Davey ve Tauber, 1993) *Bacillus cereus*'un insanlarda gıda zehirlenmesi ve çeşitli enfeksiyonlara, hayvanlarda ise mastitise neden olduğunu bildirmişlerdir. Birçok ülkede *Bacillus cereus* kaynaklı bakteriyel gıda zehirlenmesi salgınları bildirilmiştir (Bodnar ve Nikodemusz, 1982; Kramer ve ark., 1989; Anonymous, 1990). Quinn ve ark. (1994) birçok gıda maddesinin (güveçte pişirilmiş yemekler, soslar, pişirilmiş et ve tavuk, pişirilmiş sebzeler, balık, çorbalar, soslar, tatlılar, pasta, pirinçli yiyecekler, süt ve süt ürünleri) *Bacillus cereus* gıda zehirlenmesine neden olabileceğini bildirmişlerdir. Süt ve süt ürünlerinde *Bacillus cereus*'a yaygın olarak rastlandığı, bu mikroorganizmanın sütte tatlı pıhtılaşma "sweet curdling", kremada ise lesitinaz aktivitesinden dolayı parçalı krema "bitty cream" bozulmasına, tereyağında metalik ve yakıcı bir lezzete

neden olduğu bildirilmiştir (Davies ve Wilkinson, 1973; İnal, 1990). Yapılan çalışmalarda, *Bacillus cereus* oranı çiğ sütte %3.3 - 36 (Ahmed ve ark., 1983; Sharma ve ark., 1984; Oksamitnyi, 1987; Reinheimer ve ark., 1987) peynirde %2-14 (Ahmed ve ark., 1983; Van Netten ve ark., 1990) değerleri arasında saptanmıştır. Hobbs ve Roberts (1987) inceledikleri süt örneklerinde *Bacillus cereus* düzeyini  $2.1 \times 10^7$ /ml olarak saptamışlardır. Bazı araştırmacılar (Piatkiewicz ve Fabijanska, 1992) baharatlı peynir çeşidi olan "Fromage Fin" peynirlerinde *Bacillus cereus* sayısını  $5.6 \times 10^2$ /g düzeyinde belirlemişlerdir. Ülkemizde, otlu peynir ve tereyağında konu ile ilgili bir araştırma makalesine rastlanılamamıştır. Ancak, Yumuşak ve Küçükayan (1995) mastitisli inek sütlerinde %1.1, Ateş ve ark. (1990) ise mastitisli koyun sütlerinde %6.1 oranında *Bacillus cereus* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bazı ülkelerde, *Bacillus cereus* ile ilgili limit değerler standartlarla belirlenmiş olmasına karşın, Türkiye'de gerek Gıda maddeleri Tüzüğünde (Anonymous, 1952) gerekse Türk Standartlarında (Anonymous, 1974; Anonymous, 1994; Anonymous, 1995) böyle bir kriter bulunmamaktadır. Bu çalışma, Van'da tüketime sunulan çiğ süt, otlu peynir ve tereyağında *Bacillus cereus*'un varlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

<sup>(1)</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı/VAN.

<sup>(2)</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı/VAN

## Materyal ve Yöntem

Bu çalışmanın materyalini Van piyasasından sağlanan 40 adet çiğ süt, 75 adet taze otlu peynir ve 25 adet tereyağı olmak üzere toplam 140 örnek oluşturdu. Örneklerin alımı ve analize hazırlanmasında Türk Standartları'nda (Anonymous, 1977) bildirilen kurallar uygulandı. Değişik satış yerlerinden hijyenik koşullarda alınan örnekler steril cam kavanozlar içerisinde laboratuara getirildi ve aynı gün mikrobiyolojik analizlere başlandı. Örnekler analizler sonuçlanıncaya kadar  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

Çalışmada *Bacillus cereus* referans suşu (ATCC 11778) kullanıldı. Örneklerden aseptik koşullarda  $10^7$  ar gr/ml alınarak 90 ml % 0.1'lik peptonlu su ile homojenize edildi. Aynı seyrelticiyle örneklerin  $10^4$ 'e kadar dilüsyonları hazırlandı. Örneklerdeki *Bacillus cereus* sayısı, örneğin uygun dilüsyonlarından 0.1 ml kullanarak ve iki seri halinde ekim yaparak yüzeye yayma metodu ile saptandı (Anonymous, 1996).

### *Bacillus cereus*'un Sayımı

*Bacillus cereus* sayısının belirlenmesinde Cereus Selective Agar (Merck - 1.05267) kullanıldı. Bu besi yerine Liyofilize Polymyxine B Sulfate (Sigma -P-1004),

*Bacillus cereus* Selective Supplement (Merck 1.09875-000) ve Egg Yolk Tellurite Emulsion (Merck 1.03785) ilave edildi. Hazırlanan besi yerinin üretim potansiyeli *Bacillus cereus* standart suşu (ATCC 11778) ile kontrol edildi. Örneklerin uygun dilüsyonlarından ekim yapılan plaklar  $37^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildikten sonra gram + ve katalaz + özellikteki tipik kolonilere BBL Crystal Panelde (Gram - Positive ID System / GP) biyokimyasal testler uygulandı. Bu testler sonucunda trehaloz +, arabinoz -, üreaz +, laktöz-, mannitol-, gliserol-, eskulin+, maltoz +, früktoz + ve arginin+ koloniler *Bacillus cereus* olarak tanımlandı (Holbrook ve Anderson, 1980; Kramer ve ark., 1982; Anonymous, 1996).

### Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada, Van piyasasında tüketime sunulan çiğ süt, otlu peynir ve tereyağı örneklerinde *Bacillus cereus*'un varlığı araştırıldı. Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda çiğ süt örneklerinin %10'unda (4 örnek) *Bacillus cereus* izole ve tanımlandı (Çizelge 1).

Çizelge 1. Çiğ süt, otlu peynir ve tereyağı örneklerinde *Bacillus cereus*'un varlığı.

Gıda Çeşidi	N	<i>Bacillus cereus</i> yönünden pozitif örnek sayısı ve oranı	Örnek sayısına göre kontaminasyon Düzeyi		
			$10^2$	$10^3$	$10^4$
Çiğ Süt (kob/ml)	40	4 (%10)	3	0	1
Otlu peynir (kob/g)	75	1 (%1.3)	1	0	0
Tereyağı (kob/g)	25	0 (%0)	0	0	0

Bu bulgu Sharma ve ark.(1984)'nın saptadığı değerden düşük, bazı araştırmacıların (Ahmed ve ark., 1983; Reinheimer ve ark., 1987; Oksamitny, 1989) bildirimlerinden daha yüksek bulunmuştur. *Bacillus cereus* izole edilen çiğ süt örneklerinde bu sayı  $1.0 \times 10^2$ -  $2.8 \times 10^4$  kob/ml olarak belirlendi. Bu değer Hobbs ve Roberts (1987)'in bulgularıyla farklılık göstermektedir. Bu farklılığın çiğ sütün hijyenik kalitesi ve sağım hijyeninden kaynaklandığı söylenebilir. Otlu peynir örneklerinde *Bacillus cereus* ile kontaminasyon oranı %1.3 (1 örnek) olarak saptandı. Elde edilen bu değer Van Netten ve ark. (1990)'nın bulgularına yakın olmasına karşın, Ahmed ve ark.(1983)'nin bildirdikleri değerden düşük bulunmuştur. Bu örnekte belirlenen *Bacillus cereus* sayısı ( $9.0 \times 10^2$  kob/g) bazı araştırmacıların (Piatkiewicz ve Fabijanska, 1992) bulgularıyla benzerlik göstermektedir. İncelenen tereyağı örneklerinin hiçbirinden *Bacillus cereus* izole edilemedi.

### Sonuç

Bu çalışmada, analizi yapılan çiğ süt örneklerinin %10'unda (4 örnek), otlu peynir örneklerinin %1.3'ünde (1 örnek) *Bacillus cereus* izole edilmesine karşın, tereyağı örneklerinde bu mikroorganizmaya rastlanmamıştır. Süt ve süt ürünlerinin *Bacillus cereus* ile kontaminasyonunda, sağım hayvanının bazı hastalıkları (mastitis gibi), kullanılan alet ve ekipmanın temizliği, sağım ve personel hijyeni önemli rol oynamaktadır. Ayrıca pastörizasyon sonrası bir kontaminasyon da söz konusu olabilmektedir. Bu bağlamda, Van'da yaygın olarak tüketilen otlu peynirlerin hijyenik koşullarda, standart bir üretim tekniği kullanılarak kaliteli süttten imal edilmesi ve olgunlaştırıldıktan sonra satışa sunulması halk sağlığı açısından yararlı olacaktır.

**Kaynaklar**

- Ahmed, A.A., M.K. Moustafa and E.H. Martin, 1983. Incidence of *Bacillus cereus* in milk and some milk products, *J. Food Prot.* 46:126-128.
- Anonymous, 1952. *SSY Bakanlığı. Gıda Maddelerinin Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük.* Yayın No:161, SSB, Ankara.
- Anonymous, 1974. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Tereyağı.* TS 1331/Mart 1974, 1. Baskı, Ankara.
- Anonymous, 1977. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Süt ve Ürünleri Numune Alma.* TS 2530/Şubat 1977, 1. Baskı, Ankara.
- Anonymous, 1990. Centers for disease control (CDC) surveillance summaries, March 1990, MMWR 39 (SS-1).
- Anonymous, 1994. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü) İnek Sütü-Çiğ.* TS 1018/Nisan 1994, Ankara.
- Anonymous, 1995. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü), Beyaz Peynir.* TS 591/Ocak 1995, 1. Baskı, Ankara.
- Anonymous, 1996. *TSE (Türk Standartlar Enstitüsü) Mikrobiyoloji-Bacillus cereus Sayımı İçin Genel Kurallar (30°C'de Koloni Sayım Tekniği),* TS 6404, ISO 7932, Ankara.
- Ateş, M., O. Erganiş, O. Kaya, ve M. Çorlu, 1990. *Koyun Mastitisi Üzerinde Mikrobiyolojik İncelemeler.* S.Ü. Vet. Fak. Derg. 6-7: 1, 3-6; 21.
- Bergdoll, M.S., 1981. *Bacillus cereus* foodborne disease. *Clin. Microbiol. Newslett* 3:85-87.
- Bilgehan, H., 1992. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı.* Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir.
- Bodnar, S. and J. Nikodemusz, 1982. Cases of severe enteric disease caused by spore-forming aerobic bacteria in Hungary. *Zbl. Bact. Hyg. I.Abt. Orig. A* 251:79-82.
- Davey, R.T. and W.B. Tauber, 1993. Posttraumatic endophthalmitis: The emerging role of *Bacillus cereus* infections. *Rev. Infect. Dis.* 9:110-123.
- Davies, F.L. and G. Wilkinson, 1973. *Bacillus cereus in Milk and Dairy Products.* P:57-68 In B.C. Hobbs and J.H.B. Christian (ed.) *The Microbiological Safety of Food.* Academic Press. Inc., New York.
- Fricchione, L.F., D.V. Sepkowitz, J.D. Gradon, L.B. Berkowitz, 1991. Pericarditis due to *Bacillus cereus* in an intravenous drug user (letter). *Rev. Infect. Dis.* 13:774.
- Hobbs, B. and D. Roberts, 1987. *Food Poisoning of Food Hygiene.* 5<sup>th</sup> ed. Edward Arnold (publ) ltd, London.
- 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.
- İnal, T., 1990. *Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi.* Final Ofset, İstanbul.
- Jones, T.O. and P.C. Turnbull, 1981. Bovine mastitis caused by *Bacillus cereus*. *Vet. Rec.* 108:271-274.
- 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. Turnbull, G. Munshi, and R.J. Gilbert, 1989. *Bacillus cereus and Other Bacillus Species.* In Doyle MP (ed): *Foodborne Bacterial Pathogens*, pp 21-70. New York, Marcel Dekker.
- Oksamitnyi, N.K., 1989. *Bacteriological Diagnosis of Mastitis.* Veterinariya-Moskva. No:7, 50-52.
- Piatkiewicz, A. and E. Fabijanska, 1992. Microbiological contaminations of "Fromage Fin" type cheese. 3<sup>rd</sup> world congress. *Foodborne Infections and Intoxications.* Vol. 2.p 1028-1030, 16-19 June, Berlin.
- 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- Year Book Europe Limited Printed in Spain by Grafos,* S.A. Arte Sobre Papel. 356-357.
- Reinheimer, J.A., M.G. Bargogna and C.A. Zalazar, 1987. *Identification of Psychrotrophic Species of Bacillus Isolated from Raw Milk.* *Micro. Alim. Nutrition*, S:61-67.
- Sharma, J.K., R.K. Malik, D.K. Mathur, 1984. Isolation and identification of proteolytic psychrotrophic sporeforming bacteria from raw milk supplies at an experimental dairy in India. *Journal of the Society of Dairy Technology.* 37(3):96-98.
- Steen, M.K., L.A. Bruno-Murtha and G. Chaux, 1992. *Bacillus cereus* endocarditis: Report of a case and review. *Clin. Infect. Dis.* 14:945-946.
- Van Netten, P., A. Van de Moosdijk, P. Van Hoensel, D.A. Mossel and I. Perales, 1990. Psychrotrophic strains of *Bacillus cereus* producing enterotoksin. *J. Appl. Bact.* 69:73-79.
- Yumuşak, M. ve U. Küçükayan, 1995. Ankara Bölgesindeki mastitisli inek sütlerinde *Bacillus cereus* aranması. *Etlik Vet. Mikrob. Derg.* 8(1):195-217.

