

PASTÖRİZE SÜTLERDE *BACILLUS CEREUS*'UN VARLIĞI

THE PRESENCE OF *BACILLUS CEREUS* IN PASTEURIZED MILK

Haydar ÖZDEMİR

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara

ÖZET: Bu çalışma, Ankara'da, haziran, temmuz ve ağustos aylarında satışa sunulan ve farklı 5 firmaya ait toplam 120 adet pastörize süt örneğinde *B. cereus*'un varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Analiz bulguları çerçevesinde, toplam 120 adet pastörize süt örneğinin 56'sında (%46.6) *B. cereus* saptanmış olup, kontaminasyon düzeyi örneklerin 9'unda (%7.5) 10^3 kob/ml, 28'inde (%23.3) 10^2 kob/ml, 19'unda (%15.8) 10 kob/ml, 64'ünde (%53.3) ise saptama sınırının ($<1.0 \times 10$ kob/ml) altında bulunmuştur.

Sonuç olarak, pastörize sütlerin çoğunluğu *B. cereus* ile kontamine olmakla beraber, kontaminasyon düzeyinin düşük olduğu saptanmıştır. Ancak, nakliye ve satış noktalarında soğuk zincirin kırılmaması, 4°C'de muhafaza edilmesi ve raf ömrü bitmeden tüketilmesi koşulluyla, pastörize sütlerin *B. cereus* kaynaklı gıda intoksikasyonları yönünden potansiyel risk taşımayacakları görülmüştür.

ABSTRACT: This study was aim to determine the presence and contamination level of *B. cereus* in pasteurized milk, a total of 120 samples, belong to different 5 firms and saled in june, july, august in Ankara.

As the frame of analysis, *B. cereus* was defined in 56 (46.6%) samples among the total of 120 pasteurized milk samples and those contamination level was found as, 10^3 cfu/ml in 9 samples (7.5%) 10^2 cfu/ml in 19 samples (15.8%), and in 64 samples (53.3%) was found under detection level ($<1.0 \times 10$ cfu/ml).

As a conclusion, contamination level of pasreurized milks were low as well as contaminated a higher level of *B. cereus*. However, pasteurized milk, will not carry a potantial risk for food intoxication with *B. cereus*, if pasteurized milk storaged at 4°C, unbroken the cold-chain in transport and sale stages and consumed before the end of shelf-life.

GİRİŞ

Süt içermiş olduğu protein, karbonhidrat, mineral madde ve vitaminleri ile insan beslenmesinde önemli bir rol oynar. Ancak çiğ süt gerek çabuk bozulması gerekse bazen içermiş olduğu patojen ve gıda intoksikasyon etkenleri ile insan sağlığı açısından potansiyel bir risk taşır. Bu nedenle içme sütü olarak piyasaya sunulan sütler, teknolojik olarak farklı ısı-zaman parametrelerinde işlemlere tabi tutulduktan sonra tüketime sunulur. Bu amaçla çiğ sütün dayanıklılık süresini uzatmak ve başlangıçta içerebileceği patojen mikroorganizmaların vejetatif formlarını öldürmek amacıyla süt teknolojisinde en sık uygulanan yöntemlerin başında pastörizasyon işlemi gelmektedir (ÖZALP ve KAYMAZ, 1986; SUDI, 1996).

Pastörizasyon işlemi ile çiğ sütün başlangıçta içermiş olduğu mikroorganizmaların hepsi öldürülemediğinden ve bunların lipolitik ve proteolitik enzimleri tamamen inhibe edilemediğinden, pastörize sütlerin dayanma süresi kısa olup, bu süre 4°C'de en fazla 48 saat olarak sınırlandırılmıştır (ANON., 1998; SUDI, 1996).

Son yıllarda özellikle *B. cereus*'un psikrotrof serotipleri ile kontamine olan süt ve ürünlerinin halk sağlığı açısından risk taşıdığı, kontamine süt ve ürünlerinin soğukta muhafazası sırasında psikrotrof serotiplerin üreyerek toksin oluşturdukları bildirilmiştir (KRAMER, 1997).

Yaz aylarında merada beslenen süt ineklerinden elde edilen çiğ sütlerin, kış aylarında elde edilen sütlere nazaran, *B. cereus* ile daha fazla kontamine olduğu bildirilmekte olup, 4°C'de muhafaza edilen pastörize sütlerde 48. saat sonunda psikrotrof bakterilerin florada dominant olarak bulunduğu ve *B. cereus*'un pastörize sütlerde bulunma düzeyi ile raf ömrü arasında bir ilişkinin olduğu belirtilmiştir (CHRISTIANSSON ve ark. 1999; CRIELLY ve ark. 1994; LARSEN ve JORGENSEN, 1997; SUDI, 1996).

Pastörize sütlerde *B. cereus* ve sporlarının bulunmasının temel nedeninin, çiğ sütlerin değişik kontaminasyonlarından (sağım hijyeni, ahır hijyeni v.b) kaynaklandığı, pastörizason sonrası kontaminasyonların ise önemli olmadığı bildirilmiştir (CRIELLY et. al 1994; GIFFEL ve BEUMER, 1998; LARSEN ve JORGENSEN, 1997; LIN et.al 1998; SUDI 1996).

B. cereus Gram (+) ve sporlu bir bakteri olup, bazı psikrotrof serotipleri 4°C'de üreme yeteneğine sahiptir. *B. cereus* oluşturduğu değişik proteolitik ve lipolitik enzimlerle gıdalarda bozulmalara neden olur. Bunun yanında bazı serotipleri gıdalarda 10⁶ kob/g veya üzerine ulaştığında, diarelik ve emetik tipte farklı iki tip toksin oluşturarak gıda intoksikasyonlarına neden olur (BAUMGART, 1997; KRAMER, 1997).

Bu çalışma, pastörize sütlerde *B. cereus*'un varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenerek, pastörize süt tüketimine bağlı olarak oluşabilecek gıda intoksikasyonlarında, *B. cereus*'un önemini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Ankara piyasasında haziran, temmuz ve ağustos aylarında satışa sunulan ve farklı 5 firmaya ait toplam 120 adet pastörize süt örneği materyal olarak kullanılmıştır. Analiz edilen pastörize süt örnekleri üretildiği gün alınmıştır.

Mikrobiyolojik Analizler: Soğuk zincir altında laboratuara getirelen örneklerden gerekli dilusyonları hazırlamak için, steril plastik torbalara 10'ar ml konmuş ve üzerine 90 ml peptonlu su (%0.1 peptonlu) ilave edilmiştir. Daha sonra hazırlanan bu dilüsyondan 10⁻⁴'e kadar desimal dilüsyonlar hazırlanarak, *B. cereus*'un izolasyonu için Mannitol-Egg-yolk-Polymyxine-Agar'a (MYP agar-Merck- 1.05267.0500- *B.cereus* Selektif Supplement Merck-1.09875.0001- Egg Yolk Emülsiyon Merck-1.03784) yayma plak yöntemine göre ekimler yapılmıştır (BAUMGART, 1997).

Bacillus cereus'un izolasyon ve identifikasyonu: Pastörize süt örneklerinde *B. cereus*'un izolasyonu için, MYP agara ekimleri yapılan plaklar 30°C'de 20-24 saat süreyle aerob ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası MYP agarda üreyen Gram (+), sporlu, düzgün formda olmayan, kuru görünümlü, lesitinaz pozitif, pembe-mor renkteki koloniler seçilerek identifikasyon testleri yapılmıştır. *B. cereus*'un identifikasyonu için, bazı araştırmacıların (BAUMGART, 1997; PICHHARDT, 1998) önerdiği anaerob koşulda glikoz fermentasyon testi (30°C- 24 saat), arabinoz fermentasyon testi, Voges-Proskauer testi, nitrat redüksiyon testi ile anaerob koşulda üreme (30°C-24 saat) testleri yapılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada, *B. cereus* yönünde analiz edilen değişik 5 firmaya ait toplam 120 adet pastörize süt örneğinden 56'sının (%46.6) 1,0x10¹-1,6x10³ kob/ml düzeyinde *B. cereus* ile kontamine olduğu saptanmış olup, 64 örnekte (%53.3) ise, *B. cereus* saptama sınırının (<1,0x10 kob/ml) altında bulunmuştur. Çalışmaya ait sonuçlar Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1'de görüldüğü gibi, *B.cereus* 120 örneğin 9'unda (%7.5) 10³ kob/ml, 28'inde (%23.3)10² kob/ml, 19'unda (%15.8) 10 kob/ml düzeyinde bulunurken, 64'ünde (%53.3) saptama sınırının (<1.0x10 kob/ml) altında bulunmuştur.

Çizelge 1. Pastörize Süt Örneklerinde *B. cereus*'un Dağılımı

	Mikroorganizma sayıları ve yüzde dağılımı 1,0-9,9x-kob/ml							
	<1,0x10 ¹		10 ¹		10 ²		10 ³	
Mikroorganizma	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<i>B. cereus</i>	54	53.3	19	15.8	28	23.3	9	7.5

n = Örnek sayısı (120)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Pastörize sütlerde *B. cereus*'un varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, toplam 120 örnekten 56'sının (%46.6) *B. cereus* ile değişik düzeyde kontamine olduğu saptanmıştır. Pastörize sütlerde *B. cereus*'un bulunuşu üzerine yapılan bir çok çalışmada, pastörize sütlerin değişik oranlarda etkenle kontamine olduğu bildirilmiştir.

LARSEN ve JORGENSEN (1997), yaptıkları çalışmada 257 pastörize süt örneğinden, 120'sinin 10^3 - 10^5 kob/ml düzeyinde *B. cereus* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacıların bulguları ile bu çalışmanın bulguları *B. cereus*'un varlığı yönünden benzerlik göstermesine karşın, kontaminasyon düzeyleri arasında farklılıklar mevcuttur. Bu çalışmada kontaminasyon düzeyi maksimum 10^3 kob/ml düzeyinde bulunmasına karşın, araştırmacılar bazı örneklerde kontaminasyon düzeyinin 10^5 kob/ml düzeyinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu farklılığın muhtemelen çiğ sütlerin başlangıçtaki kontaminasyon düzeylerinin farklı olmasının yanı sıra, uygulanan pastörizasyon işlemlerinin, muhafaza koşullarının ve örneklerin pastörizasyon sonrası analize alınma sürelerinin farklı oluşundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

NETTEN ve ark. (1990) İspanya ve Hollanda'da pastörize süt tüketimine bağlı olarak oluşan 3 ayrı intoksikasyon olayının, psikrotrof karakterdeki *B. cereus* seroptipinden kaynaklandığını ve psikrotrof serotiplerin 4°C'de üreyerek toksin oluşturduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar buna ilaveten inceledikleri 483 adet pastörize süt örneğinden, 41'inin *B. cereus* ile kontamine olduğunu ve örneklerin 35'inde *B. cereus*'un 10^3 kob/ml düzeyinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacıların sonuçları ile bu çalışmanın sonuçları, kontaminasyon düzeyleri bakımından uyum göstermesine karşın, araştırmacılar pastörize sütlerin düşük bir düzeyinde *B. cereus* saptamış olup, bu farklılığın muhtemelen yukarıda belirtilen faktörlerin farklı oluşundan kaynaklandığı düşünülmüştür.

Benzer şekilde WONG ve ark. da (1998) analiz ettikleri pastörize sütlerin %2'sinin *B. cereus* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. GIFFEL ve BEUMER (1998) ise en fazla 7°C'de muhafaza edilen pastörize süt örneklerinde, *B. cereus*'un 48.saat sonunda genelde 10^5 kob/ml'nin altında bulunduğunu belirterek, bu sütlerin halk sağlığı açısından risk taşımayacağını bildirmişlerdir.

SOGAARD ve PETERSEN (1997) yaptıkları çalışmada, yaz aylarında üretilen pastörize süt örneklerinin *B. cereus* ile kontaminasyonunun, kış aylarına oranla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada örneklerin 56'sında (%46.6) *B. cereus* saptanmış olması, muhtemelen analiz tarihlerinin haziran, temmuz ve ağustos gibi yaz döneminde olmasıyla açıklanabilir.

LIN ve ark. (1998) ise, iki ayrı süt işletmesinde üretim hattının değişik aşamalarında aldıkları toplam 122 swap ve 232 süt örneğinden, toplam 546 adet *B. cereus* suşu izole ettiklerini bildirerek, *B. cereus*'un pastörize sütlerde bulunma nedeninin, çiğ sütlerdeki *B. cereus* sporlarından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Nitekim HELMY ve ark. (1994) çalışmalarında çiğ ve pastörize süt örneklerinin %70'inde, peynir örneklerinin ise %50'sinde *B. cereus* sporları bulunduğunu ve pastörize sütlerde spor sayılarının 10^1 - 10^2 kob/ml düzeyinde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, analiz edilen pastörize sütler yüksek oranda *B. cereus* ile kontamine olmakla beraber, kontaminasyon düzeyinin düşük olması nedeniyle pastörize sütlerin *B. cereus* kaynaklı gıda intoksikasyonları yönünden potansiyel risk taşımadıkları saptanmıştır. Ancak kontaminasyon düzeyinin maksimum 10^3 kob/ml olmakla beraber, etkenin generasyon süresinin sütte 6°C'de 17 saat, 8°C'de 8 saat olduğu düşünüldüğünde, uygun olmayan koşullarda muhafaza edilen pastörize sütlerde etkenin kısa sürede toksin oluşturabilecek düzeylere ulaşabileceği de göz önünde tutulmalıdır. Bu nedenle, pastörize sütlerin özellikle yaz mevsimlerinde nakliye ve satış noktalarında muhafazası sırasında, soğuk zincirin kırılmamasına ve 4°C'de muhafazasına dikkat edilerek, raf ömrü biten sütlerin tüketilmemesi halk sağlığı açısından önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- ANON. 1998. Pastörize Süt Türk Standardları Enstitüsü. TS 1019/Şubat.
BAUMGART, J. 1997. Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag. Hamburg.

- CHRISTIANSSON, A., BERTILSSON, J., SVENSSON, B. 1999. *Bacillus cereus* spores in raw milk: factors affecting the contamination of milk during the grazing period. J. Dairy Sci. 82, (2): 305-314.
- CRIELLY, E.M., LOGAN, N.A., ANDERTON, A. 1994. Studies on the *Bacillus* flora of milk and milk products. J. Appl. Bacteriol. 77, (3): 256-263.
- GIFFEL, M.C., BEUMER, R.R. 1998. Isolation, identification and characterization of *Bacillus cereus* in the dairy industry. Tijdschr. Diergeneeskde. 123, (21): 628-632.
- HELMY, Z.A., ABD-EL-BAKEY, A., MOHAMMED, E.I. 1984. Occurrence of *Bacillus cereus* in milk and milk products in Egypt. Zentrabl. Mikrobiol. 1329, (2): 129-133.
- KRAMER, J. 1997. Lebensmittel-Mikrobiologie. Verlag Eugen Ulmer. Stuttgart.
- LARSEN, H.D., JORGENSEN, K. 1997. The occurrence of *Bacillus cereus* in Danish pasteurized milk. Int. J. Food Microbiol. 34, (2): 179-186.
- LIN, S., SCHRAFT, H., ODUMERU, J.A., GRIFFITHS, M. W. 1998. Identification of contamination sources of *Bacillus cereus* in pasteurized milk. Int. J. Food Microbiol. 43, (3): 159-171.
- NETTEN, P., DE MOOSDIJK, A., HOENSEL, P., MOSSEL, D.A., PERALES, I. 1990. Psychrotrophic strains of *Bacillus cereus* producing enterotoxin J. Appl. Bacteriol. 69 (1): 73-79.
- ÖZALP, E., KAYMAZ, Ş. 1986. Süt Ürünleri ve Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi. Teksir 86/11.
- PICHHARDT, K. 1998. Lebensmittel-mikrobiologie. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- SOGAARD, H., PETERSEN, E. 1997. The occurrence of *Bacillus cereus* in dairy products. Nord Vet. Med. 29, (10): 429-435.
- SUDI, O. 1996. Mikrobiologie der pasteurisierten Trinkmilch. 39-65. In: Weber, H. (Ed.) Mikrobiologie der Lebensmittel-Milch und Milchprodukte. Behr's Verlag. Hamburg.
- WONG, H.C., CHANG, M.H., FAN, J. Y. 1998. Incidence and characterization of *B. cereus* isolates contaminating dairy products. Appl. Environ. Microbiol. 54, (3): 699-702.