

Bacillus cereus Sayılması

Genel Bilgiler

- *Bacillus cereus* sporlu, Gram pozitif, aerop ve çubuk formulu bir bakteridir.
- Sporlar santral veya subterminal pozisyonda olup vejetatif hücrenin genişliğinden daha geniş değildir.



- Bacillaceae familyasına ait bir bakteri olup toprak ve bitki örtüsü üzerinde yaygın bir şekilde bulunur.
- Toprak kökenli olup gerek toz ve toprak ile gerekse su ile yayılım göstermektedir.
- Adını tahıl (cereal)'dan alır.

Bacillus cereus

Description

Gram-positive, rod-shaped, facultative anaerobic bacterium and belongs to *Bacillus* genus



Disease

Causes emetic and diarrhoeal.

Emetic: consumed from cooked rice or other starchy foods left at room temperature for a prolonged time

Diarrhoeal: consumed from meat and ready prepared meals that were improperly stored, causes diarrhoea and stomach cramps



Infective Dose

10^5 - 10^8 organisms

Foods Affected

rice and other starches, prepared foods, milk, meat, vegetables



Incidence

64,000 per year in the US

- Psikrotrof özelliktedir.
- Sporlu, hareketli, aerobik bir bakteridir. Peritrik flagellaya sahiptir .
- Optimum üreme sıcaklığı, suşlara göre 28-35°C arasında değişmekle birlikte genelde 30°C dir.
- Oda sıcaklığında kolaylıkla gelişir ve sporları kolaylıkla çimlenir. Gelişebildiği pH aralığı 4,9-9,3 olup optimum 7,0'dır.
- Polimiksine dirençlidir.

1.7.1. Yıkanmış, doğrama ve paketlenme işleminden geçmiş, ayrı ayrı veya karıştırılmış çiğ sebzeler ile dondurulmuş veya kurutulmuş sebzeler	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL	EN/ISO 6579	
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	EN/ISO 11290-1	
	<i>E. coli</i> O157	5	0	0/25 g-mL	ISO 16654	
1.7.2. Kurutulmuş veya dondurulmuş meyveler	Maya ve küf	5	2	10 ⁴	10 ⁵	ISO 7954
1.7.3. Reçel, marmelat ve püreler	Küf	5	2	10 ²	10 ³	ISO 7954
1.8. Baharat						
1.8.1. Baharat, bitki ve/veya bunların karışımları (toz, macun formları, karışımları vb.)	Koagülaz pozitif stafilokoklar	5	2	10 ³	10 ⁴	EN/ISO 6888-1 veya 2
	<i>B. cereus</i>	5	2	10 ³	10 ⁴	EN/ISO 7932
	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL	EN/ISO 6579	
1.9. Meyve suları, alkolsüz içecekler ve benzerleri						
1.9.1. Doğrudan sıkılmış, pastörize edilmemiş, soğukta muhafaza edilmesi gereken, tüketime hazır meyve ve sebze suları	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL	EN/ISO 6579	
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	EN/ISO 11290-1	
	<i>E. coli</i> O157	5	0	0/25 g-mL	ISO 16654	
1.9.2. İçecek tozları	Koliform bakteriler	5	2	10 ¹	10 ²	ISO 4832
1.10. Kahve ve çay						
1.10.1. Çay (yeşil, siyah), bitki ve meyve çayları ve bunların karışımları (süzen poşet çaylar dâhil)	Maya ve küf	5	2	10 ⁴	10 ⁵	ISO 7954
	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL	EN/ISO 6579	
1.10.2. Kavrulmuş kahve çekirdeği, kavrulmuş öğütülmüş kahve, kahve ekstraktı ve aromatize kahve bileşeni içeren tüketime hazır kahve	Koliform bakteriler	5	2	10 ¹	10 ²	ISO 4832
1.11. Kakao ve kakao ürünleri, çikolata ve çikolata ürünleri	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL	EN/ISO 6579	
1.12. Şekerli ürünler						
1.12.1. Helva, pekmez, lokum, baklava ve diğer şerbetli tatlılar, ezme, cezerye, fındık ve fıstık ezmeleri, şekerlemeler vb.	Maya ve küf	5	2	10 ²	10 ³	ISO 7954
	<i>E. coli</i>	5	0	<10 ¹		ISO 16649-1 veya 2
1.12.2. Tüketime hazır tatlı soslar	Maya ve küf	5	2	10 ¹	10 ²	ISO 7954
1.13. Hazır yemekler						

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği- Eklerinde Tebliğ Mevcuttur.

<https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm>

29 Aralık 2011 tarih ve 28157 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanarak yürürlüğe giren Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği,

Ek 1. Gıda Güvenliği Kriterleri uyarınca baharatta izin verilen değer, *Bacillus cereus* için

$n = 5$;

$c = 2$;

$m = 10^3$ KOB/g ve

$M = 10^4$ KOB/g şeklindedir.

n : Partiden bağımsız ve rasgele seçilen numune sayısını,

c : m ve M arasında olmasına izin verilen maksimum numune sayısını (M değeri taşıyabilecek en fazla numune sayısını),

m : $(n - c)$ sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla mikrobiyolojik değeri,

M : c sayıdaki numunenin bu değeri aşması halinde uygunsuz olup kabul edilemez olduğunu gösteren mikroorganizma sayısını,

- Sütte çok yaygın olmasına rağmen süt ürünlerinde *B.cereus* zehirlenmesine az oranda rastlanmasının en önemli nedeni, yüksek sayıda *B. cereus* varlığında süt ve süt ürünlerinde bozulmanın hissedilmesi sonucu bu ürünlerin tüketilmemesidir.
- Süt dışında pirinç, diğer tahıllar, nişasta, baharat, kuru gıdalar, et ve tavukların yüzeylerinden sıklıkla izole edilir.

Genel Bilgiler

- *B.cereus*, iki farklı tip enterotoksin (emetik enteretoksin ve diyarejenik enterotoksin) sentezleyebilir ve dolayısıyla iki farklı tip zehirlenme oluşturabilir.
- Bunlardan birisi genellikle 12-13 saatlik bir inkübasyon süresinden sonra sulu diyareye neden olur, bulantı yapar, eğer olarak da kusma görülür.

Genel Bilgiler

- *B.* Hastalık 6-12 saat sürer. Bu tip *B. cereus* zehirlenmesi, *C. perfringens* gıda zehirlenmesine benzerlik gösterir.
- Diyare-tipi zehirlenmeye neden olan gıdalar arasında; mısır ve mısır nişastası başta olmak üzere tahıllı gıdalar, patates püresi, sebzeler, kıyma, bazı et ürünleri, puding ve çorbalar sayılabilir.

- Daha ağır seyreden, *B. cereus'un* emetik-tip (kusma tipi) gıda zehirlenmesinde ise inkübasyon süresi 1-6 saat arasında değişmekte olup, genel olarak 2-5 saattir.
- Zehirlenme, *S. aureus* gıda zehirlenmesine benzerlik gösterir. Bu tip zehirlenmeye en çok neden olan gıda grubu pirinçli yiyeceklerdir.

Genel Bilgiler

- Gıda kaynaklı hastalıklara ilaveten *B. cereus*, solunum sistemi ve yara enfeksiyonlarına neden olabilir.
- Standart analiz yöntemi katı besiyerinde koloni saymaktır. Amaca göre EMS yöntemi ile sayım ya da var/yok testleri de yapılabilir.

Katı Besiyerinde Sayım

- Yayma yöntemi ile yapılan standart sayım yöntemidir.
- Homojenizasyon ve gerekli ise seyreltiler yapıldıktan sonra Mannitol egg Yolk Polymyxin (MYP) agar besiyerine ekim yapılır.
- Analiz edilen numunede düşük sayıda *B. cereus* bekleniyor ise homojenizattan (ya da sıvı gıda numunesinin kendisinden) 14 cm çaplı Petri kutusunda hazırlanmış MYP agara 1 mL numune aktarılabilir.
- 30°C'ta aerobik şartlarda 21 ± 3 saat inkübasyondan sonra tipik koloniler sayılır.
- Eğer koloniler belirgin değilse inkübasyona 24 saat daha devam edilir.

EK B - 31



MYP Agar'da *Bacillus cereus*.

- MYP agar besiyerinde *B. cereus* kolonileri tipik olarak büyük, pembe ve lesitinaz aktivitesine bağlı olarak koloni etrafında presipitasyon zonu oluşturur.

- *B. cereus*, mannitol negatif bir bakteridir. Buna bağlı olarak kolonileri bu besiyerinde renk değiştirmez ve pembe renkli kalır.
- Koloni rengi sarı ise bu koloni, mannitol pozitif bir bakteridir ve *B. cereus* değildir.
- Analiz edilen numunede refakatçi olarak yoğun mannitol pozitif bakteri varsa *B. cereus*'un tipik pembe kolonileri maskelenebilir.

EMS Yöntemi ile Sayım

- Standart EMS kuralları uygulanır. Bu amaçla kullanılan sıvı besiyeri tryptic soy (CASO) broth+polymyxin besiyeridir.
- 30°C'ta aerobik şartlarda 21 ± 3 saat inkübasyondan sonra bulanıklık görülen tüplerden MYP agara sürme yapılır, yine 30°C'ta aerobik şartlarda 21 ± 3 saat inkübasyondan sonra tipik/ doğrulanmış kolonilerin elde edildiği tüpler (+) olarak değerlendirilir ve EMS çizelgesinden sonuç hesaplanır.

Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

- Analiz yapılmadan önce dikkat edilmesi gereken en önemli şart sterilizasyon ve aseptik şartların devam ettirilmesidir.
- Bu işlemlerin tamamında kullanılan malzemelerin hepsi steril olmak zorundadır.
- Bunun yanında işlem esnasında çevreden mikroorganizma kontaminasyonunu (bulaşmasını) önlemek için aseptik şartlar sağlanmalıdır.

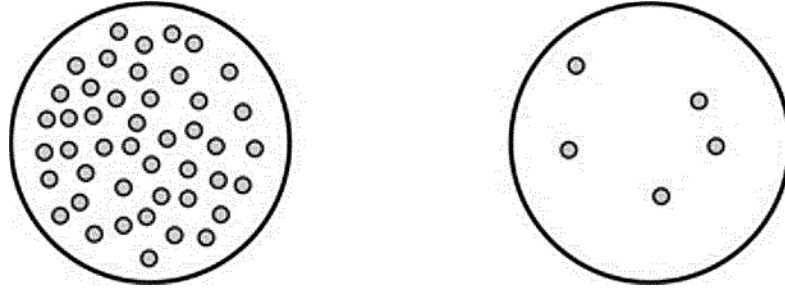
- Seyreltme işlemi bitirildikten sonra hızla ekim yapılmalıdır.



Ekimlerde dikkate alınacak hususlar

- Petri kutularının homojenizasyona başlamadan önce yazılmış olması işlem sırasında gereksiz beklemlerin önüne geçer.
- Her seyreltiden 2 Petri kutusuna paralel ekim yapılması gereklidir.
- Ekim sırasında numunenin kontaminasyonu kesinlikle önlenmelidir.

- İnkübasyondan sonra Petri kutuları sayım, var/yok analizlerine uygun bir şekilde değerlendirilir.



- Analizden sonra, ekim yapılmış tüm malzeme otoklavda sterilize ya da uygun bir kimyasal madde ile dezenfekte edilir. Daha sonra bu malzeme yıkanır ya da atılır.
- Analiz yapılan yüzey mutlaka dezenfekte edilir.
- Laboratuardan çıkılmadan önce eller yıkanır.

1.13.1. Tüketime hazır (pişirilmiş) her türlü et ve sebze yemeği vb.	Stafilokokal enterotoksinler	5	0	25 g'da bulunmamalı		
	<i>B. cereus</i>	5	2	10 ²	10 ³	EN/ISO 7932
	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL		EN/ISO 6579
1.13.2. Tüketime hazır her türlü salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezeler vb.	<i>E. coli</i>	5	2	<10 ¹	10 ¹	ISO 16649-1 veya 2
	Stafilokokal enterotoksinler	5	0	25 g'da bulunmamalı		
	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL		EN/ISO 6579
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL		EN/ISO 11290-1
1.13.3. Tüketime hazır (pişirilmiş) her türlü unlu mamul (makarna, her türlü börek, lahmacun, pide, pizza, mantı vb.)	<i>E. coli</i>	5	0	<10 ¹		ISO 16649-1 veya 2
	Stafilokokal enterotoksinler	5	0	25 g'da bulunmamalı		
	<i>B. cereus</i>	5	2	10 ²	10 ³	EN/ISO 7932
	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL		EN/ISO 6579
1.13.4. Tüketime hazır (pişirilmiş) her türlü tatlı (puding, muhallebi, krema, aşure, su muhallebisi vb.)	Stafilokokal enterotoksinler	5	0	25 g'da bulunmamalı		
	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL		EN/ISO 6579
1.14. Özel beslenme amaçlı gıdalar						
1.14.1. Bebek formülleri ve devam formülleri (özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar dahil)	<i>B. cereus</i>	5	2	5x10 ¹	5x10 ²	EN/ISO 7932
	<i>Cronobacter sakazakii</i>	10	0	0/25 g-mL		ISO/DTS 22964
	<i>Salmonella</i>	10	0	0/25 g-mL		EN/ISO 6579
	<i>L. monocytogenes</i>	10	0	0/25 g-mL		EN/ISO 11290-1
1.14.2. Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları (özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar dahil)	<i>B. cereus</i>	5	2	10 ²	10 ³	EN/ISO 7932
	Enterobacteriaceae	5	0	<10 ¹		ISO 21528-2
	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g-mL		EN/ISO 6579
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL		EN/ISO 11290-1
1.15. Diğer gıdalar						
1.15.1. Tuz	Koliform bakteriler	5	2	10 ¹	10 ²	ISO 4832
1.15.2. Soya sütü ve soyalı ürünler	<i>E. coli</i>	5	2	<10 ¹	10 ¹	ISO 16649-1 veya 2

Besiyerinin Hazırlanışı

Mannitol Egg yolk Polymyxin (MYP) Agar

- Yaygın kullanımda besiyerinin hazırlanması için 450 mL saf su içinde 21,5 g dehidre besiyeri kaynatılarak eritilir ve otoklavda 121°C'ta 15 dk sterilize edilir.
- Su banyosunda 45-50°C'a soğutulup üzerine oda sıcaklığına hatta 35-37°C'a ısıtılmış 50 mL steril yumurta sarısı emülsiyonu ile 1 mL steril saf suda çözündürülmüş 1 şişecik *B. cereus* selektif katkısı ilave edilir ve karıştırılarak steril Petri kutularına dökülür.

- Hazırlanmış besiyeri yumurta sarısı nedeni ile bulanık ve hafif portakal renklidir.
- Besiyeri selektif katkısında bulunan polimiksin refakatçi mikrobiyotayı baskılarken bu konsantrasyon *B. cereus* üzerinde olumsuz etki yapmaz.

İşlem Aşamaları

1. Gıda örneği (tebliğe uygun numune seçilebilir), mikrobiyolojik analiz kurallarına uyularak laboratuvara getirilir.
2. Steril edilecek malzemeler ile uygun miktardaki besiyeri otoklavlanır. MYP agara katılaşmadan uygun sıcaklıkta iken yumurta sarısı emülsiyonu ile katkısı eklenir, homojen hale getirilerek petrilere dökülür. Katılaşması beklenir.
3. Gıda numunesinin uygun seri dilüsyonları yapılır.
4. Yayma yöntemine göre besiyerine ekim yapılır.
5. 30°C de aerobik şartlarda 21 ± 3 saat süreyle inkübe edilir.
6. Tipik koloniler sayılır.

İlgili Örnek Videolar

- ✓ <https://www.youtube.com/watch?v=MuDvj3cTyCI>
Bacillus cereus Analizi
- <https://www.youtube.com/watch?v=Um3e5jJlAto>
Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi
- <https://www.youtube.com/watch?v=m3OXl7ZYjEk>
Bacillus cereus

Kaynaklar

- Gıda Mikrobiyolojisi Ders Notları. YTÜ Prof.Dr. Muhammet Arıcı.
- Gıda Mikrobiyolojisi. 2019. Editör: A. Kadir Halkman. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd, Ankara, 648 s. ISBN: 978-605-245-683-5
- <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/942124051.pdf>