

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI



**SÜT VE BAZI SÜTLÜ TATLILARDA
TOKSİJENİK *BACILLUS CEREUS* VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Eray BURTAÇGİRAY

Danışman

Prof. Dr. Mehmet ELMALI

HATAY-2024

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**SÜT VE BAZI SÜTLÜ TATLILARDA
TOKSİJENİK *BACILLUS CEREUS* VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Eray BURTAÇGİRAY

Danışman

Prof. Dr. Mehmet ELMALI

HATAY-2024

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**SÜT VE BAZI SÜTLÜ TATLILARDA
TOKSİJENİK *BACILLUS CEREUS* VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Eray BURTAÇGİRAY

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 17/12/2024 günü çevrimiçi olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof. Dr. Mehmet ELMALI
Üye: Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN
Üye: Prof. Dr. Hayriye Yeşim CAN

Bu tez, Enstitümüz Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütölmesi sırasında desteğini esirgemeyen, sabırla ve ilgiyle bana yol gösteren danışman hocam sayın Prof. Dr. Mehmet ELMALI'ya saygı ve Őukranlarımı sunarım. Çalıőmamda yardımlarını esirgemeyen Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın Prof. Dr. Hayriye Yeşim CAN'a, Prof. Dr. Cemil KÜREKCI ve Doç. Dr. Sevda PEHLİVANLAR ÖNEN'e, aynı zamanda Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın Prof. Dr. Tarık Haluk ÇELİK'e ve Prof. Dr. Fatma Seda ERGENEKON'a teőekkürlerimi sunarım. Çalıőmamda büyük bir samimiyetle bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, bana destek olan ve eğitim hayatım boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ÖZET	X
ABSTRACT.....	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Bacillus cereus</i> 'un Genel Özellikleri.....	3
2.1.1. <i>Bacillus cereus</i> 'un Tarihçesi	3
2.1.2. <i>Bacillus cereus</i> 'un Morfoloji ve Gelişim Özellikleri	3
2.2. <i>Bacillus cereus</i> 'un Epidemiyolojisi.....	5
2.3. <i>Bacillus cereus</i> Toksinleri ve Özellikleri.....	7
2.3.1. Hemolizin BL (HBL).....	8
2.3.2. Hemolitik Olmayan Enterotoksin (NHE)	9
2.3.3. Sitotoksin K (CytK).....	9
2.3.4. Emetik Toksin (Cereulide).....	10
2.4. <i>Bacillus cereus</i> 'un Neden Olduğu Hastalıklar	10
2.4.1. Non-Gastrointestinal Hastalıklar	11
2.4.2. Gastrointestinal Hastalıklar	11
2.4.2.1. Diyarel Sendrom.....	11
2.4.2.2. Emetik Sendrom	12
2.5. Gıdalarda <i>Bacillus cereus</i> Varlığı	13
2.5.1. Et ve Et Ürünleri.....	14
2.5.2. Süt ve Süt Ürünleri	15
2.5.3. Diğer Gıdalar	17
2.6. Ülkemizdeki Mevcut Yasal Mevzuat.....	18
2.7. Kontrol ve Önlem.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Gereç.....	20

3.1.1. Analizlerde Kullanılan Besiyerleri ve Diğer Kimyasal Maddeler	20
3.1.2. Moleküler Analizlerde Kullanılan Malzemeler	21
3.2. Yöntem.....	23
3.2.1. <i>Bacillus cereus</i> 'un İzolasyon ve İdentifikasyon Aşamaları.....	23
3.2.1.1. Ön Zenginleştirme Aşaması.....	23
3.2.1.2. Katı Besiyerine Ekim Aşaması	23
3.2.2. Moleküler Analizler	24
3.2.2.1. DNA Ekstraksiyon Aşaması	24
3.2.2.2. İzolatların PCR Yöntemi ile Doğrulanması.....	24
3.2.2.3. Elektroforez Aşaması.....	25
3.2.2.4. <i>Bacillus cereus</i> İzolatlarında Toksin Genlerinin Varlığının Araştırılması	26
3.2.3. İstatistiksel Değerlendirme	27
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA.....	33
6. SONUÇ.....	40
7. KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3. 1. Şüpheli <i>B. cereus</i> kolonilerinin katı agardaki görünümü.....	24
Şekil 4. 1. Elde edilen <i>Bacillus cereus</i> suşlarının agaroz jel elektroforez görüntüsü	29
Şekil 4. 2. Elde edilen bazı izolatlarda toksin genlerinin varlığı.....	32
Şekil 4. 3. Elde edilen bazı izolatlarda toksin genlerinin varlığı.....	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. Bacillus cereus'un üreme koşulları	5
Çizelge 2. 2. Toksinlerin sınıflandırılması.....	7
Çizelge 2. 3. Bacillus cereus'un sebep olduğu diyarel ve emetik sendromlarının özellikleri	13
Çizelge 2. 4. Bacillus cereus, C. perfringens, S. aureus'un neden olduğu gıda zehirlenmelerinde görülen semptomların karşılaştırılması.....	13
Çizelge 2. 5. Bacillus cereus ile ilgili yasal düzenleme.....	18
Çizelge 3. 1. Çalışmada kullanılan PCR karışımının içeriği	25
Çizelge 3. 2. Hedeflenen gen ve amplifikasyon koşulları	25
Çizelge 3. 3.Çalışmada kullanılan PCR karışımının içeriği	26
Çizelge 3. 4. Hedeflenen genler ve amplifikasyon koşulları	27
Çizelge 4. 1. Süt örneklerinde B. cereus varlığı	28
Çizelge 4. 2. Sütlü tatlı örneklerinde B. cereus varlığı.....	28
Çizelge 4. 3. Süt ve sütlü tatlılarda B. cereus yüzdeleri	29
Çizelge 4. 4. Elde edilen B. cereus suşlarının toksin genlerinin dağılımı	30
Çizelge 4. 5. İzolat bazında toksin genlerinin dağılımı	30

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

a_w	: Water activity
β	: Beta
bp	: Base pair
°C	: Santigrad derece
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
D-değeri	: Decimal reduction time
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FDA	: U.S. Food and Drug Administration
g	: Gram
GMP	: Good Manufacturing Practice
GHP	: Good Hygiene Practices
HACCP	: Hazard Analysis and Critical Control Points
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
IU	: International unit
kob	: Koloni oluşturan birim
kDa	: Kilo Dalton
log	: Logaritma
μl	: Mikrolitre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NaCl	: Sodyum Klorür
NIAID	: National Institute of Allergy and Infectious Diseases
NIH	: National Institutes of Health
pmol	: Picomole
PCR	: Polymerase Chain Reaction
pH	: Power of Hydrogen
sn	: Saniye

TAE : Tris-Acetate-EDTA
TBE : Tris-Borate-EDTA
UHT : Ultra-High Temperature
UV : Ultraviole

ÖZET

Süt ve Bazı Sütli Tatlılarda Toksik Bacillus cereus Varlığının Araştırılması

Bacillus cereus gıda kaynaklı önemli bir patojendir. Bu tez çalışmasında süt ve bazı sütli tatlılarda *Bacillus cereus* varlığı araştırıldı ve toksin genleri multipleks PCR yöntemiyle tespit edildi. Ocak-Mart 2024 tarihleri arasında Ankara ilindeki farklı satış noktalarından 23 çiğ süt, 20 pastörize süt, 20 UHT süt, 20 sütlaç, 20 puding ve 20 kazandibi örneği analiz edilmiştir. Toplam 123 adet süt ve sütli tatlı örneği klasik kültür tekniği ile incelendi. *B. cereus* şüpheli koloniler hemolizin geni hedef alınarak moleküler teknikler ile doğrulandı ve takiben multipleks PCR yöntemiyle toksin genlerinin (*hbl*, *nhe*, *cytK*, *ces*) varlığı tespit edildi.

14'ü çiğ süt (%60,87), 8'i pastörize süt (%40), 2'si UHT süt (%10), 9'u sütlaç (%45), 3'ü puding (%15) ve 8'i kazandibi (%40) olmak üzere, toplamda 44 örnekte *B. cereus* izole edildi. Araştırmada toplam 28 izolatta (%63,63) enterotoksin geni saptanarak, izolatların en fazla *nhe* genine sahip olduğu belirlendi. Aynı zamanda *hbl* ve *cytK* genleri saptanırken; emetik formdan sorumlu *ces* geni hiçbir izolatta saptanmamıştır.

Uygun koşullar altında üretilemeyen ve muhafaza edilemeyen süt ve sütli tatlılarda *B. cereus* varlığının halk sağlığı yönünden tehlike oluşturabileceği düşünülmektedir. Tüm bu tehlikeler göz önünde bulundurulduğunda, *B. cereus* prevalansının kontrol altına alınması için çiftlikten sofraya, tüketiciye ulaşana kadar geçen tüm süreçlerde hijyenik prosedürlere dikkat edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus cereus*, süt, sütli tatlı, toksijenik genler, halk sağlığı

ABSTRACT

Investigation of the Presence of Toxigenic *Bacillus cereus* in Milk and Some Milk Desserts

Bacillus cereus is an important foodborne pathogen. In this thesis, the presence of *B. cereus* in milk and some dairy desserts was investigated and toxin genes were detected by multiplex PCR method. Between January and March 2024, 23 raw milk, 20 pasteurized milk, 20 UHT milk, 20 rice pudding, 20 pudding and 20 kazandibi samples were analyzed from different sales points in Ankara. A total of 123 milk and milk dessert samples were examined with classical culture technique. Following the confirmation of suspicious *B. cereus* colonies by molecular techniques targeting the hemolysin gene, the presence of toxin genes (*hbl*, *nhe*, *cytK*, *ces*) was detected by multiplex PCR method.

B. cereus was isolated in a total of 44 samples, 14 of which were raw milk (60.87%), 8 of which were pasteurized milk (40%), 2 of which were UHT milk (10%), 9 of which were rice pudding (45%), 3 of which were pudding (15%) and 8 of which were kazandibi (40%). In the study, it was determined that a total of 28 isolates (63.63%) had the enterotoxin gene and the isolates had the most *nhe* gene, while *hbl* and *cytK* genes were detected at the same time. The *ces* gene responsible for the emetic form was not detected in any isolate.

It is thought that the presence of *B. cereus* in milk and milk desserts that cannot be produced and preserved under appropriate conditions may pose a danger to public health. Considering all these dangers, in order to control the prevalence of *B. cereus*, attention should be paid to hygienic procedures from farm to table until it reaches to the consumer.

Keywords: *Bacillus cereus*, milk, dairy dessert, toxigenic genes, public health

1. GİRİŞ

Gıda kaynaklı hastalıklar, halk sağlığı açısından dünya nüfusunun büyük bir kısmını olumsuz yönde etkilemektedir. *Bacillus cereus* dünya genelinde gıda kaynaklı salgınların %1,4-12'sini oluşturmaktadır, ancak epidemiyolojik çalışmaların sonucundaki yapılan istatistiksel değerlendirmeler bu oranın daha yüksek olduğunu göstermektedir (Grutsch ve ark. 2018).

Süt ve süt ürünlerinde *Bacillus cereus*'un varlığı 1916 yılından itibaren rapor edilmiştir. Özellikle süt işletmeleri ve çiftliklerde üretilen çiğ sütlerin önemli bir kontaminantı olduğu bilinmektedir (Ahmed ve ark. 1983). *Bacillus cereus* hava, su ve topraktan izole edilen, Gram pozitif, aerob veya fakültatif anaerob ortamlarda üreyebilen, sporlu bir mikroorganizmadır (Griffiths, 2009). *Bacillus cereus* et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, pirinç, sebze ve baharatlar da dâhil olmak üzere çok çeşitli gıda ürünlerinden izole edilebilmektedir (Grutsch ve ark. 2018). Etkenin sporlu bir mikroorganizma olması, her türlü olumsuz koşullara (radyasyon, pastörizasyon ve stres) karşı dirençli olmasına, patojenin oldukça yaygın dağılım göstermesine ve halk sağlığı açısından oldukça büyük tehlike oluşturmasına neden olmaktadır (Griffiths, 2009; Grutsch ve ark. 2018).

Dünya nüfusunun hızlı artışı beraberinde süt ve süt ürünleri tüketiminin küresel artışı doğal olarak süt ve sütlü tatlılar başta olmak üzere süt ürünlerine olan talebi de artırmaktadır. Bu sebeple, gıda güvenliği ve kalitesinin korunması için süt işletmelerini etkileyen her bir sorunun çözümüne yönelik değerlendirmelerin yapılması gerekmektedir. Süt ve süt ürünlerinin kalitesi ve raf ömrü öncelikle çiğ sütün başlangıç mikroorganizma yüküne bağlıdır. Çiğ süt kaynaklı herhangi bir kusur, mikroorganizma düzeyinin artmasına yol açarak süt ürünlerinin de üretim süreci açısından büyük bir tehlike oluşturabilmektedir (Gopal ve ark. 2015).

Bacillus ve spor oluşturan diğer mikroorganizmaların kontrolü bu açıdan oldukça önem teşkil etmektedir. Süt ve süt ürünlerinde ise *B. cereus* oldukça sık karşılaşılan ve gıda matriksinde önemli değişikliklere neden olabilen mikroorganizmadır.

Bacillus cereus'un enterotoksin üretebilmesi, sporlu bir patojen olması, süt işletmelerinde *B. cereus* sporlarının paslanmaz çelik yüzeylere yapışabilmesi ve biyofilm

oluşturabilmeleri sonucunda hijyen sorunlarına ve süt ve süt ürünlerinin bozulmalarına neden olur. Tüm bu durumlar aynı zamanda ciddi ekonomik kayıplara yol açabilmektedir (Kumari ve Sarkar, 2016).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Bacillus cereus*'un Genel Özellikleri

2.1.1. *Bacillus cereus*'un Tarihçesi

Bacillus cinsi bakteriler halk sağlığı açısından büyük öneme sahip mikroorganizma grubu olarak bilinmektedir. *Bacillus* cinsi 1872 yılında Ferdinand Cohn tarafından Gram pozitif, aerob ve endospor oluşturabilen çubuk şeklinde bakteriler olarak tanımlandı (Harwood, 1989).

Bacillus cereus'un izolasyonu, ilk kez Percy Faraday Frankland ve Grace Coleridge Faraday tarafından rapor edilmiştir (Frankland ve Frankland, 1887). Gıda zehirlenmesini *Bacillus* spp. ile ilişkilendiren ilk rapor ise 1906 yılında Lubenau tarafından yayınlanmıştır; bu rapora göre 300 kişide ishal, kusma ve mide krampları gibi semptomlar görülmüştür. Lubenau organizmayı *Bacillus peptonificans* olarak tanımlasa da bu semptomlar *Bacillus cereus*'un semptomları ile benzerlik göstermektedir. 1950 yılına kadar *B. cereus*'un bir gıda zehirlenme vakalarına karıştığı kesin olarak belirlenememiştir (Adams ve Moss, 2008).

1955 yılında Hauge Norveç'te 600 kişinin bir gün önceden hazırlanan vanilya sosunu tükettiğini ve ishal ile seyreden gastrointestinal zehirlenmeye yol açtığını bildirmiştir. Hauge'nin bu bulguları Avrupa'daki diğer bilim otoriteleri tarafından da doğrulanmıştır (Hauge, 1955; Tewari ve Abdullah, 2015).

Günümüzde ise *B. cereus*'un birden fazla virülans faktöre sahip olduğu ve bu faktörlerin hem lokalize hem de sistemik infeksiyonlara yol açarak diyarel ve emetik formlardan sorumlu olduğu bilinmektedir.

2.1.2. *Bacillus cereus*'un Morfoloji ve Gelişim Özellikleri

Bacillaceae familyası en az 56 cins ve 545 türden oluşmaktadır (Bhunja, 2018). *Bacillus* cinsi ise yaklaşık 136 tür içermektedir. *Bacillus*'un bilinen başlıca patojen türleri yedi farklı türden oluşan “*Bacillus cereus* grubuna” aittir. Bu türler; *B. cereus*, *B. anthracis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. thuringiensis* ve *B. cytotoxicus*'dur. Sıralanan bu türler enterotoksin üretebilmekte ve gastroenterite yol

açabilmektedir (Bhunia, 2018). *Bacillus cereus*, *Bacilli* sınıfının *Bacillales* takımında ve *Bacillaceae* familyasında yer alan bir mikroorganizmadır (Vos ve ark. 2011).

Bacillus cereus, gıdalarda ve çevrede oldukça yaygın olarak bulunan, *Bacillaceae* familyasında yer alan, Gram pozitif, çubuk şeklinde, hareketli, aerob veya fakültatif anaerob ortamlarda üreyebilen, 0.8- 1.3 µm genişliğinde ve 2-6 µm uzunluğunda, endospor oluşturabilen, karbonhidratları fermente edebilen kemoheterotrof ve rekabetçi özelliği düşük bir mikroorganizmadır (Alina ve ark. 2015; Griffiths ve Schraft, 2017; Erol, 2022). *Bacillus* spp. türlerinin gıdalarda ve çevrede yaygın olmasının önemli nedenlerinden biri dirençli endosporlar oluşturma yetenekleridir (Griffiths ve Schraft, 2017). Spor hücreleri çevrede yaygın olarak bulunmakla beraber; toprak, su ve bitkilerden kolaylıkla izole edilmektedir. (Adams ve Moss, 2008). *Bacillus cereus*'un sporları elipsoidal; yüksek sıcaklık, donma, kurutma, gama ve UV ışınları gibi çeşitli çevresel faktörlere karşı *Bacillus cereus*'un vejetatif hücrelerine nazaran çok daha dayanıklı olduğu bilinmektedir (Adams ve Moss, 2008; Tirloni ve ark. 2022). Gıda zehirlenmeleri ile ilişkilendirilen sporların D95°C (203°F) değeri yaklaşık 24 dakika olup; Z-değeri ise yaklaşık 6°C (10,8°F) ile 9°C (16,2°F) arasında değişmektedir (Griffiths ve Schraft, 2017).

Bacillus cereus aside karşı dirençli bir mikroorganizma değildir, üreyebildiği optimum pH aralığı 4.9-9.3'tür. Aynı zamanda %7,5 oranında tuz konsantrasyonunda yaşamsal aktivasyonuna devam edebilmektedir (Walderhaug, 2012).

Gıda kaynaklı çeşitli hastalıklara neden olan *Bacillus cereus*'un birden fazla suşu bulunmaktadır. Suşların ayırt edilmesinde diğer önemli özelliklerinden biri de *B. cereus*'un büyüme ve gelişmesi için gereken sıcaklık değerleridir. *Bacillus cereus* suşları üreme koşullarına bakıldıklarında psikrotrof veya mezofil karakter göstermektedir.

Psikrotrof suşlar buzdolabı sıcaklığında üreyebilir ve soğutulmuş-dondurulmuş gıdalardan izole edilirken; 37°C ve üzerindeki sıcaklıklarda üreyip gelişebilmeleri oldukça zordur. Mezofil suşlar ise 10°C'nin altındaki sıcaklıklarda üremesi oldukça sınırlı iken; üremeleri için en uygun sıcaklık değeri 30-35°C arasında olduğu bilinmektedir (Wijnands ve ark. 2006). *Bacillus cereus*'un üreme koşulları Çizelge 2.1' de detaylı şekilde incelenmiştir.

Çizelge 2. 1. *Bacillus cereus*'un üreme koşulları (Erol, 2022).

Faktör	En Düşük- En Yüksek	Optimum Koşulları
Sıcaklık (°C)	10-50 °C	28-25°C
pH	4.9-9.3	6-7
a_w	0.91-0.93	0.92
NaCl Konsantrasyonu	%7	

2.2. *Bacillus cereus*'un Epidemiyolojisi

Bacillus cereus doğada oldukça yaygın; hava, su ve toprağın yanı sıra bitki ve hayvan materyallerinden de izole edilebilen önemli bir mikroorganizmadır (Stenfors Arnesen ve ark. 2008; Griffiths ve Schraft, 2017). Patojen aynı zamanda böcek ve memelilerin gastrointestinal sisteminde de gelişebilmekte ve geçici kolonizasyonlara sebep olabilmektedir (Stenfors Arnesen ve ark. 2008).

Bacillus cereus üzerine yapılan epidemiyolojik araştırmalar sonucunda pirinç ve makarna hastalığının emetik formu ile ilişkilendirilirken; süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, sebzeler hastalığının diyarel formu ile ilişkilendirilmiştir. Ülkelere göre dağılımı incelendiğinde; diyarel form Norveç, Finlandiya, Macaristan ve Bulgaristan'da daha sık bildirilirken; emetik form İngiltere ve Japonya'da daha sık bildirildiği araştırmalar sonucunda saptanmıştır (Kramer ve Gilbert, 1989).

Bacillus cereus'un epidemiyolojik veri yüzdeleri ülkeden ülkeye farklılık gösterebilmektedir. Birçok ülkede *B. cereus*'un neden olduğu gıda zehirlenmelerinin kesin sayısı tespit edilmediği bildirilmiştir. Bunun nedeni ise *B. cereus*'un klinik semptomları diğer hastalık semptomları ile karışmakta ve yeterince teşhis edilemediği bildirilmektedir. Bundan dolayıdır ki, farklı ülkelerde rapor edilen infeksiyonların görülme sıklığını doğrudan karşılaştırmak oldukça zordur (Kotiranta ve ark. 2000). *Bacillus cereus*'un emetik formunda karşılaşılan klinik semptomları *S. aureus*'un yol açtığı klinik semptomlar ile benzerlik gösterirken; diyarel formunda karşılaşılan klinik semptomlar ise *C. perfringens* tip A gıda zehirlenmelerinin yol açtığı klinik semptomlar ile benzerlik göstermektedir (Stenfors Arnesen ve ark. 2008).

Bacillus cereus ile seyreden hastalık semptomları nispeten geçici ve hafif seyirlidir (genellikle <24 saat). Aynı zamanda karşılaşılan bu semptomlar için tıbbi herhangi bir yardım istenmemesi, dahası oluşan semptomlar sağlık yetkililerine bildirilirse dahi, hastalığın tanısı için spesifik bir tanı yöntemi olmaması *B. cereus* kaynaklı infeksiyon düzeylerinin oldukça düşük tahmin edilmesine sebep olmaktadır. (Griffiths ve Schraft, 2017; Jovanovic ve ark. 2021). *Bacillus cereus* gıda zehirlenmelerinin diğer patojenlere nispeten daha düşük sıklıkta görünmesinin bir diğer sebebi ise hastalığın meydana gelmesinde rol oynayan hücre sayılarıdır. Hastalığın yüksek hücre sayılarına ulaşabilmeleri ve kontaminasyon riski oluşturabilmesi için gıdaların uzun süre depolanma koşullarına tabi tutulması gerekmektedir (Griffiths ve Schraft, 2017).

Bacillus cereus üzerine Dünya'nın değişik ülkelerinde 1973-1985 yılları arasında yapılan epidemiyolojik değerlendirmeler de bakteriyel gıda zehirlenmelerine yol açan önemli bir mikroorganizma olarak yer almaktadır (Kramer ve Gilbert, 1989). Yine *Bacillus cereus*'un epidemiyolojik verileri incelendiğinde, gıda kaynaklı vakaların daha çok sanayileşmiş ülkelerde (gelişmiş ülkeler) gözlemlendiği bildirilmiştir (Kotiranta ve ark. 2000). *Bacillus cereus* Fransa'da gıda kaynaklı patojenlerinden sorumlu en sık görülen ikinci, Avrupa'da ise üçüncü bakteriyel ajan olarak bilinmektedir (Glasset ve ark. 2018).

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri'nin (CDC) Amerika Birleşik Devletleri'nde yurt içinden kaynaklanan gıda kaynaklı hastalıklara ilişkin bir raporunda, yıllık tahmini *B. cereus* hastalığı vakası sayısı 63.400 olarak verilmiştir (Walderhaug, 2012).

Genel olarak gelişmiş ülkelerde hastalık izleme ve kontrol sistemleri gelişmemiş ülkelere göre daha güncel ve sık izlenmektedir. Bu durum, gelişmiş ülkelerde daha fazla hastalık semptomu ile karşılaşacağını göstermektedir.

Bacillus cereus izolatlarının epidemiyolojik özelliklerinin belirlenmesi bu patojenin dağılım sıklığı ve bulaşma yolları hakkında daha geniş bilgi sağlayacaktır. Böylelikle gelecekte olası *B. cereus* olgularını ve aynı zamanda infeksiyonun ekonomik ve sağlık riskini de en aza indirecektir (Tuipulotu ve ark. 2021).

2.3. *Bacillus cereus* Toksinleri ve Özellikleri

Bacillus cereus, en az 5 farklı enterotoksin ve bir tane de emetik toksin üretebilen önemli bir patojen mikroorganizmadır. Bu toksinler; hemolizin BL (HBL), hemolitik olmayan enterotoksin (NHE), sitotoksin K (CytK), enterotoksin T (BceT), enterotoksin FM (EntFM) ve cereulide olarak da bilinen emetik toksindir. Bu toksinlerden hemolizin BL (HBL), hemolitik olmayan enterotoksin (NHE) ve sitotoksin K (CytK) hastalığın diyarel formuna sebep olan ana toksinler olarak bilinirken; enterotoksin T (BceT) ve enterotoksin FM (EntFM) toksinleri diğer üç ana toksine göre etki değeri daha düşük olduğundan genellikle hastalık yapıcı toksinler sınıfına dahil edilmemektedir. Cereulide toksini ise hastalığın bir diğer formu olan emetik form ile ilişkilendirilmiştir (Lund ve Granum, 1996; Stenfors Arnesen ve ark. 2008; Pexera ve Govaris, 2010; Griffiths ve Schraft, 2017). Toksinlerin yapısına baktığımızda da farklılıklar gözlenmektedir. Hastalığa sebep olan toksinlerin sınıflandırılması Çizelge 2.2’ de detaylı şekilde incelenmiştir.

Diyarel forma yol açan toksinler (NHE, HBL ve CytK) ve cereulide toksini polipeptit yapısına sahiptir. Enterotoksinlerden HBL ve NHE çok bileşenli ve birbirleriyle kimyasal olarak ilişkili proteinlerken, enterotoksin CytK tek bir protein olarak bilinmektedir (Stenfors Arnesen ve ark. 2008; Pexera ve Govaris, 2010; Erol, 2022).

Çizelge 2. 2. Toksinlerin sınıflandırılması (Ryan ve ark. 1997; Granum ve ark. 1999; Griffiths, 2009; Griffiths ve Schraft, 2017)

	Sorumlu Toksin	Sorumlu Gen ve Moleküler Ağırlığı
Diyarel Form	➤ Hemolizin BL (HBL)	<i>hblD, hblC, hblA</i> (38.2, 43.5, 37.5 kDa)
	➤ Hemolitik olmayan enterotoksin (NHE)	<i>nheA, nheB, nheC</i> (41.0, 39.8, 36.5 kDa)
	➤ Sitotoksin K (CytK)	<i>CytK</i> (34 kDa)
Emetik Form	➤ Cereulide	<i>ces</i> (1.2 kDa)

Bacillus cereus toksinlerinin sentezlenme koşulları sebep oldukları hastalıklara göre değişiklik gösterebilmektedir. Hastalığın diyarel formuna yol açan suşların, gelişebildiği optimum sıcaklık derecesi 32°C iken, 10-43°C sıcaklık aralığında da üreyip gelişebilmektedirler. Bu suşlar aynı zamanda oksijen düzeyinin düşük olduğu ortamlarda

daha yüksek düzeyde toksin üretebilmektedir. Diyarel formda etkenin kendisinden ziyade toksini etkilidir ve bu toksin pH 3'te ve mide-bağırsak sisteminin enzimleri ile yıkılmaktadır (Griffiths ve Schraft, 2017).

Hastalığın emetik formuna yol açan toksinin sentezlenebildiği optimum sıcaklık 12-15°C aralığında iken, 12-37°C sıcaklık aralığında da üretilmektedir. (Griffiths ve Schraft, 2017). Toksin logaritmik büyüme (eksponensiyel) evresinde üretilir. Isıya (121°C' de 15 dakika) oldukça dirençli ve tripsin, pepsin (mide enzimleri) gibi proteolitik enzimlere karşı da oldukça dirençli olmaları hastalığın oluşmasına sebep olmaktadır (Shinagawa ve ark. 1996; Griffiths ve Schraft, 2017).

Diyarel forma yol açabilen başlıca toksinler hemolizin BL (HBL), hemolitik olmayan enterotoksin (NHE) ve sitotoksin K (CytK) dır.

2.3.1. Hemolizin BL (HBL)

Hemolizin BL (HBL), postoperatif bir yaradan izole edilen *Bacillus cereus* suşu F837/76'dan izole edilmiş ve saflaştırılmıştır (Turnbull ve ark. 1979). İlk izole edildiğinde sadece bağlayıcı bileşik olan "B" ve litik bileşen "L" den oluşan ikili bir toksin olduğu bildirilmiştir, yapılan araştırmalar sonucu L1, L2 ve B olmak üzere üç bileşenli enterotoksin kompleksi olduğu saptanmıştır (Beecher ve MacMillan, 1991; Griffiths ve Schrafts, 2017). Belirtilen bu bileşenler kromozol olarak operonda sırasıyla *hblD*, *hblC* ve *hbl A* genleri tarafından kodlanmaktadır (Griffiths and Schrafts, 2017). L1, L2, B proteinlerinin molekül ağırlıkları sırasıyla 38,2 kDa, 43,5 kDa ve 37,5 kDa olarak belirlenmiştir (Ryan ve ark. 1997).

Hemolizin BL, hemolitik yeteneğe sahip bir toksindir. Toksin üç bileşeninin de birbirinden bağımsız olarak bağlanmasını takiben bir membran da por oluşturur ve bu sayede ozmotik lizise sebep olmaktadır (Griffiths and Schrafts, 2017), ancak ozmotik lizise neden olabilmesi için bu üç proteinin de mutlaka salınması gerekmektedir (Ryan ve ark. 1997). HBL, dermonekrotik aktivite ve vasküler geçirgenliğe, retina dokusuna karşı sitotoksik aktivite gösterme yeteneğine sahip bir önemli bir toksindir (Beecher ve Wong, 1994; Beecher ve ark. 1995a; Beecher ve ark. 1995b; Griffiths ve Schrafts, 2017). Hemolizin BL,

yapılan araştırmalar sonucu *B. cereus*'un diyarel formunun birincil virölans faktörü olduğu belirtilmiştir (Beecher ve ark. 1995b).

2.3.2. Hemolitik Olmayan Enterotoksin (NHE)

Hemolitik olmayan enterotoksin (NHE), ilk olarak 1995 yılında Norveç'te NVH 0075/95 suşunun neden olduğu bir gıda zehirlenmesinden sonra izole edilmiş bir toksindir (Lund ve Granum, 1996). Hemolitik olmayan enterotoksin, *NheA*, *NheB*, *NheC* proteinlerinden oluşan ve sırasıyla *NheA*, *NheB*, *NheC* genlerini içeren kromozomal olarak bir operonda kodlanabilen üç proteinli bir kompleks toksindir (Griffhts ve Schrafts, 2017). Bu proteinlerin moleköl ağırlıkları sırasıyla 41.0, 39.8 ve 36.5 kDa olarak belirlenmiştir (Granum ve ark. 1999).

Etki mekanizmasına baktığımızda; toksinin hastalığa yol açması için ilk adımın *NheC* ve *NheB* proteinlerinin hücre yüzeyine bağlanması ve takiben *NheA* proteininin de hücre yüzeyine bağlanmasına izin vererek hücre lizisine yol açmasıyla gerçekteşmektedir (Lindbäck ve ark. 2010). NHE proteinlerinin, oldukça sitotoksik özelliğe sahip olduğu ve membran da porlara yol açtığı bilinmektedir. Maksimum biyolojik aktivite göstermesi için HBL toksininde olduğu gibi üç bileşenin de salınması gerekmektedir (Griffhts ve Schrafts, 2017). Yapılan araştırmalar sonucu, *Bacillus cereus* suşlarının yaklaşık olarak %99'u bu toksini içermekte ve diyarel forma yol açan en baskın toksin olduğu düşünölmektedir (Moravek ve ark. 2006).

2.3.3. Sitotoksin K (CytK)

Sitotoksin K (CytK) ilk olarak 1998 yılında Fransa'da bakımevinde gıda zehirlenmesinde *Bacillus cereus* suşu NVH391/98'den izole edilen, nekrotik ve hemolitik etkilere yol açan önemli bir toksin grubudur. Etkenin NVH391/98 suşu bakımevinde tüketilen sebze püresinde 10^5 kob/g düzeyinde saptanmış, etken kaynaklı zehirlenmeden 44 kişi etkilenmiş, 3 kişi hayatını kaybetmiştir (Lund ve ark. 2000).

Toksin aynı zamanda EntK olarak da bilinir, kromozomal olarak sadece CytK geni tarafından kodlanan tek bir proteindir, proteinin moleköl ağırlığı ise 34 kDa olarak

belirlenmiştir (Lund ve ark. 2000; Griffiths and Schraft, 2017). Toksinin Vero hücrelerine karşı sitotoksik olduğu yapılan araştırmalar sonucu saptanmıştır (Hardy ve ark. 2001).

Sitotoksin K (CytK), CytK 1 ve CytK 2 olmak üzere iki farklı formda detaylandırılabilir. NVH391/98 suşundan izole edilen CytK 1 formu, insan bağırsak CaCo2 hücreleri ve Vero hücrelerine karşı CytK 2'den beş kat daha fazla sitotoksik etkili olduğu yapılan çalışmalar sonucu belirlenmiştir (Fagerlund ve ark. 2004). CytK, yapı olarak *Clostridium perfringens*'in β -toksinine benzerlik göstermektedir (Lund ve ark. 2000). Sorumlu olan NVH391/98 *B. cereus* suşu, diğere suşlardan farklılık göstererek daha yüksek sıcaklıklarda (termotolerant) gelişebilmektedir (Guinebretière ve ark. 2013).

2.3.4. Emetik Toksin (Cereulide)

Emetik toksin (cereulide), ilk kez tüketiminden dört gün önce hazırlanmış pesto soslu spagetti makarnayı tüketimi sonucu gastroenterit belirtileri gösteren bireylerden izole edilmiştir. Tüketim sonrası iki gün içerisinde bireylerden birisinde karaciğere yetmezliği gelişmiş ve takiben ölüm gerçekleşmiştir (Griffiths ve Schraft, 2017). Toksin aynı zamanda hepatik mitokondriyal yağ asit oksidasyonunu inhibe etmekten sorumludur (Mahler ve ark. 1997).

Yapılan araştırmalar sonucu emetik toksinin, dört aminoasit ve üç tekrar serisinden oluşan halka yapısında bir peptid olduğu belirlenmiştir. Sereulid olarak da bilinen dodekadepsipeptid yapısında ve 1,2 kDa moleköl ağırlığında bir toksindir. (Griffiths, 2009). Sereulid toksininin sentezinde sereulid sentetaz geni (*ces*) tarafından kodlanabilen nonribozomal peptid sentetaz enzimi görev almaktadır. (Ehling-Schulz ve ark. 2005b). Toksin bakteri tarafından aerob ve mikroaerob ortamlarda üretilebilir ancak anaerob ortamlarda üretilememektedir (Finlay ve ark. 2002).

2.4. *Bacillus cereus*'un Neden Olduğu Hastalıklar

Bacillus cereus'un neden olduğu hastalıklar, non-gastrointestinal ve gastrointestinal hastalıklar olmak üzere, iki grupta incelenmektedir.

2.4.1. Non-Gastrointestinal Hastalıklar

Bu hastalıklar, daha çok *B. cereus* gıda zehirlenmesi dışındaki hastalıklarla ilişkilendirilmiştir, fakat bu hastalık tabloları gastrointestinal hastalık semptomları kadar yaygın değildir. Hastalık tabloları arasında bakteriyemi, menenjit, septisemi, endokardit, akciğer ve beyin apseleri, idrar yolu ve deri infeksiyonları vardır (Gaur ve ark. 2001; Logan ve Rodriguez-Diaz, 2006; Gopinathan ve ark. 2018). Bu infeksiyonlar ağır ve bazı durumlarda ölümcül olabilmektedir (Schoeni ve Wong, 2005; Shimoyama ve ark. 2017).

Bacillus cereus'un pnömoni vakaları ile ilişkilendirilmesi oldukça düşük bir ihtimal olarak bilinir, ancak vakalar lösemi gibi diğer risk faktörleri ile ilişkilendirilebilmektedir (Schoeni ve Wong, 2005). *Bacillus cereus* göz infeksiyonları ile ilişkilendirilebilen en önemli patojenlerden birisidir. Göz infeksiyonu oluşan kişilerde 24 saat içerisinde geri dönüşü olmayan doku hasarlarına sebep olabilmektedir (Schoeni ve Wong, 2005; Logan ve Rodriguez-Diaz, 2006; Jeremiah ve ark. 2023).

2.4.2. Gastrointestinal Hastalıklar

Bacillus cereus'un sebep olduğu gıda zehirlenmeleri iki farklı hastalık tablosu şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Bunların birincisi diyarel form, ikincisi ise emetik form şeklindedir. *Bacillus cereus*'un sebep olduğu diyarel ve emetik sendromlarının özellikleri Çizelge 2.3'te detaylı şekilde belirtilmiştir.

2.4.2.1. Diyarel Sendrom

Diyarel sendrom, etkenin vejetatif veya spor formu içerebilen gıdalar ile alınmasını takiben, konağın ince bağırsağında vejetatif hücreler bir veya birden fazla ısıya duyarlı enterotoksin üreterek ileum epitel hücrelerinde dejenerasyonlara ve por oluşumuna sebep olur. Bu durumda hastalığın en önemli semptomu olan sulu ishale yol açtığı bilinmektedir. Hastalık, kontamine gıdanın alımından yaklaşık 8-16 saatlik bir inkübasyon dönemini takiben karında kramp, ishal ve bazı hastalarda kusma ile kendini göstermektedir (Schoeni ve Wong, 2005; Cliver ve Riemann, 2011; Logan, 2012). Hastalıkta, infeksiyöz doz yaklaşık 10^4 - 10^9 kob düzeyinde belirlenmiştir. Hastalık genellikle herhangi bir tedavi gerektirmeksizin 24-48 saat içerisinde iyileşebilmektedir (Griffiths, 2009; Logan, 2012).

Et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, çorba, sebze, puding ve soslar etkenin diyarel sendromunda sıklıkla karşılaşılan gıdalardır (Cliver ve Riemann, 2011; El Tawab ve ark. 2020; Elgushi ve ark. 2023).

Diyarel sendromun yol açmış olduğu semptomlar *Clostridium perfringens*'in sebep olduğu gıda zehirlenmeleri ile oldukça benzerlik göstermektedir (Drobniewski,1993; Schoeni ve Wong, 2005). Hastalığa ait vakalar yılın her dönemi çıkabilmekle beraber, ülkeler arasında belirgin bir dağılım sıklığı gözlenmemektedir (Logan ve Rodriguez-Diaz, 2006).

2.4.2.2. Emetik Sendrom

Emetik sendrom, 1971 yılında İngiltere’de kızarmış pirinç tüketen on üç kişide yaklaşık 1-6 saat içerisinde mide bulantısı, kusma karın krampları ve bazı hastalarda ishal ile seyreden *B. cereus*’un önemli hastalık formlarından birisidir (Mortimer ve McCann, 1974; Cliver ve Riemann, 2011). Hastalık, genellikle herhangi bir tedaviye ihtiyaç duymadan 6-24 saat içinde iyileşebilmektedir (Schoeni ve Wong, 2005; Griffiths, 2009). Hastalıkta, enfektif doz yaklaşık 10^5 - 10^8 kob/g seviyelerinde gözlemlenmiştir (Logan ve Rodriguez-Diaz, 2006; Griffiths, 2009).

Pirinç, makarna, pasta ve bebek mamaları etkenin emetik sendromunda sıklıkla karşılaşılan gıdalardır (Cliver ve Riemann, 2011; Logan, 2012). Çevre koşullarına (yüksek ısı, asit ve alkali ortam, proteoliz) oldukça dirençli olan toksin, gıdada önceden oluşmakta ve bu gıdaları tüketen insanlarda zehirlenmeye neden olmaktadır (Logan, 2012). Emetik sendromun yol açmış olduğu semptomlar *Staphylococcus aureus* 'un sebep olduğu gıda zehirlenmeleri ile oldukça benzerlik göstermektedir (Schoeni ve Wong, 2005; Tewari ve Abdullah, 2015). *Bacillus cereus*, *C. perfringens* ve *S. aureus*’un neden olduğu gıda zehirlenmelerinde görülen semptomların karşılaştırılması Çizelge 2.4’ de detaylı şekilde belirtilmiştir.

Çizelge 2. 3. *Bacillus cereus*'un sebep olduğu diyarel ve emetik sendromlarının özellikleri (Griffiths, 2009; Cliver ve Riemann, 2011; Logan, 2012).

Sendrom	İnkübasyon süresi	Hastalık Süresi	İnfektif Doz	Semptomlar	Sorumlu Tutulan Gıdalar
Diyarel Form	8-16 saat	24-48 saat	10 ⁴ -10 ⁹ kob	Karın ağrısı, sulu ishal, bazen mide bulantısı	Et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, çorba, sebze, puding ve sos
Emetik Form	1-6 saat	6-24 saat	10 ⁵ - 10 ⁸ kob/g	Mide bulantısı, kusma, bazen ishal	Pirinç, makarna, pasta ve bebek maması

Çizelge 2. 4. *Bacillus cereus*, *C. perfringens*, *S. aureus*'un neden olduğu gıda zehirlenmelerinde görülen semptomların karşılaştırılması (Schoeni ve Wong, 2005; Cliver ve Riemann, 2011).

Patojen	İnkübasyon Süresi	En Belirgin Semptom	Hastalık Türü
<i>Clostridium perfringens</i>	8-16 saat	Sulu ishal	Toksi-infeksiyon
<i>B. cereus</i> , diyarel sendrom	8-16 saat	Sulu ishal	Toksi-infeksiyon
<i>B. cereus</i> , emetik sendrom	1-6 saat	Kusma	İntoksikasyon
<i>Staphylococcus aureus</i>	1-5 saat	Kusma	İntoksikasyon

2.5. Gıdalarda *Bacillus cereus* Varlığı

Bacillus cereus, et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, pirinç ve baharatlar da dahil olmak üzere, çok çeşitli gıdalardan izole edilebilen bir mikroorganizmadır (Ahmed ve ark. 2019; Chen ve ark. 2022; Cufaoglu ve Ayaz, 2022; Elgushi ve ark. 2023). *Bacillus cereus*'un aynı zamanda vakumlanmış ve paketlenmiş soya ve tahıl bazlı bitkisel gıdalardan da izole edildiği araştırmalar sonucunda belirlenmiştir (Fang ve ark. 1999). Spor oluşturabilen bir mikroorganizma olması, etkenin prevalansını artırmaktadır (Griffiths, 2009). Hastalığın ortaya çıkmasında önemli etkenlerden birisi de gıdaların uygun olmayan muhafaza koşullarında bekletilmesidir. Yetersiz soğutma işlemleri veya gıdaların 60°C altında ısıtılması gıda zehirlenmesine yol açabilmektedir (Griffiths ve Schraft, 2017).

2.5.1. Et ve Et Ürünleri

Et ve et ürünleri; amino asitler, peptitler ve aminoasitler gibi azotlu bileşikler açısından oldukça zengin ve aynı zamanda et ve et ürünlerin yüksek rutubet içeriğine sahip olması birçok mikroorganizmanın gelişimine imkân tanımaktadır (Ahmed ve ark. 2019). Geçmişten günümüze kadar et ve et ürünleri hayvansal gıdalar arasında diyetin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Bundan dolayı, et ve et ürünlerinde *B. cereus* kontaminasyonu ve çoğalması halk sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (Tewari ve ark. 2015; Shawish ve Tarabees, 2017).

Et ve et ürünlerinden değişik düzey ve oranlarda *B. cereus* 'un izole edildiği ile ilgili yurt içi ve yurt dışında yapılan araştırmalar bulunmaktadır.

Güven ve ark. (2006) 100 adet et ve et ürünü örneğinden (25 adet sığır eti, 25 adet kuşbaşı, 25 adet sucuk, 25 adet pastırma) %22,4 oranında *B. cereus* izole ettiklerini bildirilmektedir. Kursun ve ark. (2011), 50 adet tavşan eti örneğinin %36'sında yaklaşık 10^3 kob/g düzeyinde *B. cereus* izole ettiklerini belirtmektedir.

Shawish ve Tarabees (2017), Mısır'da Menofia ve Kahire vilayetlerindeki farklı süpermarketlerden rastgele toplanan toplam 200 adet sığır eti ürünü örneğinde (40 adet kıyma, 40 adet burger köftesi, 40 adet sosis, 40 adet köfte ve 40 adet salam) *B. cereus* varlığı incelenmiştir. Araştırma sonucuna göre, sırasıyla %22,5, %30, %25, %37,5 ve %15 oranında *B. cereus*'u izole ettiklerini bildirmektedir.

El-Wahaab ve ark. (2018), Kalyobia vilayetindeki farklı marketlerden rastgele toplanan toplam 100 farklı et ürünü örneğinde (25 adet pirinç köftesi, 25 adet kobeba (geleneksel içli köfte), 25 adet sosis ve 25 adet dana burger), *B. cereus* ve virülans genleri açısından incelenmiştir. *Bacillus cereus* insidansı pirinç köftesi, kobeba, sosis ve dana burger için sırasıyla %60, %52, %40 ve %36 olarak saptadıklarını bildirmektedirler.

Ahmed ve ark. (2019), farklı süpermarket ve dükkânlardan toplanan 120 adet et ve et ürünü örneğinde (30 adet sığır burger, 30 adet sosis, 30 adet salam ve 30 adet pirinç köftesi) *B. cereus* suşlarının prevalansını değerlendirmiştir. Elde ettiği sonuçlara göre, en yüksek *B. cereus* yüzdesini pirinç köftesi örneklerinde (%56,7) saptayarak, bunu sırasıyla sosis (%46,7), dana burger (%43,3) ve salam (%26,7) izlemiştir.

El Tawab ve ark. (2020), farklı süpermarketlerden toplanan 100 adet et ve et ürünü örneğinde (25 adet pirinç köftesi, 25 adet kobeba (geleneksel içli köfte), 25 adet tavuk pane ve 25 adet tavuk nugget) *B. cereus* varlığı açısından incelenmiştir. *Bacillus cereus*, kobeba, pirinç köftesi, tavuk pane ve tavuk nuggetlarda sırasıyla %24, %12, %20 ve %10'unda saptadıklarını bildirmektedirler.

Yapılan tüm bu araştırmalar sonucuna göre, *B. cereus*' un gıdalardaki yaygınlığını ve kontaminasyon düzeyini azaltmak için gıda zincirinin tüm aşamalarında iyi hijyen uygulamaları (GHP- Good Hygiene Practices), tehlike analizi ve kritik kontrol noktaları (HACCP- Hazard Analysis and Critical Control Points) prosedürlerinin uygun bir şekilde uygulanmasını gerektirmektedir (Milojevic ve ark. 2019).

Etkenin olası tehlikelerini azaltabilecek önemli hususlar şu şekilde sıralanabilir:

1. Hayvanlar hijyenik koşullarda kesilmelidir.
2. Mezbaha ve soğuk hava depoları dezenfektanlarla düzenli bir şekilde temizliği yapılmalı ve sıcaklık değerleri kontrol edilmelidir.
3. Kullanılacak alet ve ekipmanların temizliğine dikkat edilmelidir.
4. Et ürünlerinin üretimi ve işlenmesinde görev alan tüm personele hizmet içi eğitim programları düzenlenmeli ve kişisel hijyen kuralları uygulanmalıdır.
5. Et ve et ürünleri pişirildikten hemen sonra hızlı bir şekilde 7 °C altına soğutulmalı ve tekrar ısıtılma durumunda merkezi sıcaklık en az 70 °C olmalıdır. Bir diğer önemli husus da çapraz kontaminasyonu önlemek için, pişmiş gıdalar çiğ olanlardan mutlaka ayrılmalıdır (Shawish ve Tarabees, 2017; El-Wahaab ve ark. 2018).

2.5.2. Süt ve Süt Ürünleri

Bacillus cereus süt ve süt ürünleri için son derece önemli bozulmaya neden olan mikroorganizmalardan biridir. Patojenin aynı zamanda enterotoksin ve spor oluşturabilme yeteneği nedeniyle gıda zehirlenme vakalarıyla ilişkilendirilir ve süt endüstrisi için büyük bir tehlike yaratabilmektedir (Kumari ve Sarkar, 2016; Tirloni ve ark. 2022). Her ortamda bulunabilen *B. cereus*, süt ürünleri üretim zincirinin tüm aşamalarından izole edilebilir, özellikle spor hücrelerinin süt işletme tesislerinde paslanmaz çelik yüzeylerine yapışabilme

ve biyofilm oluşturma özelliği nedeniyle ciddi hijyen sorunlarına, süt ve süt ürünlerinin bozulmasına ve süt işletmelerinde ekonomik kayıplara yol açabilmektedir (Kumari ve Sarkar, 2016; Tirloni ve ark. 2022). Yem ve altlıklardaki *B. cereus* varlığı toprak ile temas halinde olan inek memelerinin kontaminasyonu açısından oldukça büyük bir tehlike yaratabilir (Tirloni ve ark. 2022). Sağım sırasında, *B. cereus*'un spor hücreleri sütü kontamine edebilir ve pastörizasyon işleminin (63 °C' de 30 dakika veya 72 °C' de 15 saniye) ile de spor hücreleri yıkımlanamamakta ve bu durum tüketiciler için de oldukça tehlike teşkil etmektedir (Radmehr ve ark. 2020; Tirloni ve ark. 2022).

Süt ve süt ürünlerindeki başlangıç mikroorganizma yükü, çiftlikten çiftliğe ve bölgeler arasında da farklılık gösterebilmektedir (Tewari ve Abdullah, 2015). Süt ve süt ürünlerinden değişik düzey ve oranlarda *B. cereus* izole edildiği ile ilgili yurt içi ve yurt dışında yapılan çok sayıda araştırma bulunmaktadır.

Mısır'da yapılan bir araştırmada toplam 160 adet süt ve süt ürünü örneğinde (20 adet çiğ inek sütü, 20 adet pastörize süt, 40 adet dondurma, 20 adet bebek maması, 20 adet süt tozu, 20 adet sütlaç ve 20 adet yoğurt) *B. cereus* varlığı açısından incelenmiştir. Ürünlerin toplam 44 adedinde (%27,5) *Bacillus* benzeri üremeler görölmüş, sonrasında yapılan biyokimyasal testler ve PCR sonucuna göre ise ürünlerin 34 adedinden (%21,25) *B. cereus* izole edilmiştir (Mohamed ve ark. 2016).

Yıbar ve ark. (2017) Temmuz-Aralık 2013 tarihleri arasında Bursa'daki farklı süpermarketlerden alınan 153 süt örneği (53 adet çiğ süt, 50 adet pastörize süt ve 50 adet UHT süt) ve 106 adet peynir örneğini analiz etmişlerdir. Toplam 259 süt ve peynir örneğinin 26 adedinden (%10,04) *B. cereus* izole edilmiştir. Çiğ ve pastörize sütte *B. cereus* düzeyi 10^1 - 10^3 kob/mL aralığında, peynirde ise 10^1 - 10^5 kob/g aralığında saptadığını bildirmektedirler.

Hefny ve ark. (2020) yapmış oldukları çalışmada 100 adet süt ve süt ürünü (30 adet çiğ süt, 40 adet karış peyniri ve 30 adet dondurma) incelenmiştir. 30 adet çiğ süt örneklerinin 12 adedinde (%40), 40 adet karış peynirinin 16 adedinde (%40) ve 30 adet dondurmanın 6 adedinde (%20) *B. cereus* izole edilmiştir. Chang ve ark. (2021) yapmış oldukları çalışmada, Çin'in güneybatısındaki 3 bölgeden toplamda 150 çiğ manda sütü örneği ve 300 pastörize manda sütü örneği toplanmıştır. Toplanan 450 adet örneğin 96 adedinde *B. cereus* suşu izole edilmiştir. Aynı şekilde 150 çiğ manda sütünün 50 adedinde

(%33,33) ve 300 pastörize manda sütünün 46 adedinde (%15,3) *B. cereus* saptadıklarını bildirmektedirler.

Can ve Sarı (2023), Malatya ilinden toplamış oldukları 75 adet peynir örneğinin 55 adedinde (%73,3) *B. cereus*'u izole ettiklerini bildirmektedirler. Elgushi ve ark. (2023) Mısır'ın El-Gharbia bölgesinde yapmış oldukları çalışmada, toplanan 180 süt ve süt ürünü örneğinde (60 adet çiğ süt, 60 adet süt tozu ve 60 adet Ras peyniri) enterotoksijenik *B. cereus* prevalansı değerlendirilmiştir. Çiğ sütlerden sadece 1 adedinde (%1,66), süt tozunun 15 adedinde (%24,99) ve son olarak Ras peynirinin 3 adedinde (%4,99) *B. cereus* izole ettiklerini bildirmektedirler.

2.5.3. Diğer Gıdalar

Bacillus cereus et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri dışında tüketime hazır gıdalarda, bebek mamalarında ve baharat örneklerinde de saptandığı bilinmektedir.

Ankara ilinde yapılan bir çalışmada, tüketime sunulan 50 adet çiğ köfte örneğinin 22 adedinden *B. cereus* izole edilmiş ve bu pozitif örneklerin ise 14'nün (%63,63) enterotoksin oluşturduğu bildirilmiştir (Pehlivanlar, 2003).

Ülkemizde yapılan bir diğer araştırmada ise, farklı firmalardan toplanan 55 adet bebek maması örneği ile 25 adet bebek beslemede kullanılan tahıl bazlı ürünün, 50 adedinde (%62,5) *B. cereus* izole edilmiştir (Urhan, 2022).

Cufaoglu ve Ayaz (2022), araştırmada farklı süpermarketlerden toplanan toplamda 203 paketlenmiş ve paketlenmemiş baharat örneğinde *B. cereus* varlığı üzerine yapılan araştırmada, 99 adet paketlenmiş baharat örneklerinin 29 adedinde (%29,29), 104 adet paketlenmemiş baharat örneklerinin ise 35 adedinde (%33,65) *B. cereus* izole edilmiştir. Çürek ve ark. (2023), 70 adet baharat örneği (50 ambalajsız ve 20 ambalajlı baharat) *B. cereus* bakımından değerlendirilmiştir. 50 adet ambalajsız baharat örneklerinin 22 adedinde (%44), 20 adet ambalajlı baharat örneklerinin ise 5 adedinde (%25) *B. cereus* izole edilmiştir.

İran'ın İsfahan kentinde yapılmış olan bir çalışmada, toplamda 200 farklı bebek maması örneği *Bacillus cereus* ve enterotoksin genlerinin varlığı bakımından araştırılmıştır. 200 adet bebek maması örneğinin 84 adedinden (%42) *B. cereus* izole edilmiş ve ortalama

mikroorganizma düzeyi ise ortalama 10^1 kob/g düzeyinde saptandığı bildirilmektedir (Rahimi ve ark. 2013).

Chen ve ark. (2022), Çin'de tüketime hazır 1071 adet pirinç örneğinin 91 adedinde (%8,5) *B. cereus* izole edildiğini bildirmektedirler.

Sulaimani şehrinde 60 adet çiğ pirinç, 40 adet pişmiş pirinç örneği incelenmiştir. Çiğ pirinç örneklerinin 24 adedinde (%60), pişmiş pirinç örneklerinin ise 5 adedinde (%8,3); toplamda 29 adet pirinç örneğinde *B. cereus* izole edilmiştir. Çiğ pirinç örneklerinde *B. cereus* yoğunluğu 10^4 kob/g düzeyinde iken, pişmiş pirinçte 10^3 kob/g düzeyinde tespit edilmiştir (Sidiq ve Arif, 2023).

2.6. Ülkemizdeki Mevcut Yasal Mevzuat

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğine göre, farklı gıdalardaki *B. cereus* ile ilgili yasal düzenleme Çizelge 2.5'de verilmiştir.

Çizelge 2. 5. Bacillus cereus ile ilgili yasal düzenleme (TGK, 2011)

Gıda	N	c	M	M
Baharat, bitki ve/veya bunların karışımları (toz, macun formları, karışımları vb.)	5	2	10^3	10^4
Tüketime hazır (pişirilmiş) her türlü et ve sebze yemeği vb.	5	2	10^2	10^3
Tüketime hazır (pişirilmiş) her türlü unlu mamul (makarna, her türlü börek, lahmacun, pide, pizza, mantı vb.)	5	2	10^2	10^3
Tüketime hazır olmayan gıdalar	5	2	10^3	10^4
Bebek formülleri ve devam formülleri (özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar dahil)	5	2	5×10^1	5×10^2
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları (özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar dahil)	5	2	10^2	10^3
Kurutulmuş bebek formülleri (özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar dahil)	5	1	5×10^1	5×10^2

n: Numune sayısı c: m ile M limiti arasında değere sahip olmasına izin verilen numune sayısı, kob: Koloni oluşturan birim (katı besiyerinde)

2.7. Kontrol ve Önlem

Uygun olmayan muhafaza ve sanitasyon koşulları ve kontamine alet-ekipman *Bacillus cereus*'un gıda ile ilişkili hastalıklara yol açan başlıca faktörler arasındadır (Bhunja, 2018). *Bacillus cereus*'un spor hücreleri ısıya oldukça dayanıklı olup, yeterli derecelerde ısıtma işlemleri ile *B. cereus*'un vejetatif hücreleri de dahil olmak üzere, gıda kaynaklı patojenlerin birçoğu yıkımlanmakta, ancak spor hücrelerini yıkımlayamamaktadır (Schneider ve ark. 2005). *Bacillus cereus* ile ilişkilendirilen gıda zehirlenmesi risklerini azaltmak veya önlemek için uluslararası standartlarda belirtilen işletim prosedürleri uygulanmalıdır.

Uluslararası bu işletim prosedür önerileri Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH), Ulusal Alerji ve Bulaşıcı Hastalıklar Enstitüsü (NIAID) ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) olası riskleri azaltmak için, birtakım önerilerde bulunmuştur (Schneider ve ark. 2017; Mohammadi ve ark. 2022). Bu önerilere göre;

- Gıdaların basınç altında $\geq 60^{\circ}\text{C}$ buharda pişirilmesi, kızartma, kavurma ve ızgara yöntemleri ile pişirilmesi sonucu *B. cereus*'un vejetatif hücreleri ve sporları yıkımlanabilir.
- Emetik toksininin varlığını engellemek için gıdalar en az 121°C 'de 80 dakika ısıtılmalıdır.
- Gıdaların ısıtıldıktan hemen sonra hızlı bir şekilde soğutulması, spor hücrelerinin germine olmasını önleyebilmektedir.
- Genel olarak, spor hücrelerinin germine olmasını engellemek için ısıtılmış gıdalar 57°C 'de, soğuk gıdalar 5°C 'nin altında tutulmalıdır.
- Üretim sonrası tüketilmeyen gıdalar ise $< 5^{\circ}\text{C}$ soğutulmalı veya buzdolabı sıcaklığında saklanmalıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Araştırmada, günlük hayatta her yaş grubu birey tarafından tüketilen farklı firmalardan temin edilmiş 63 adet süt (20 adet inek, 2 adet koyun ve 1 adet manda çiğ sütü, 20 adet pastörize süt, 20 adet UHT süt) ve 60 adet sütlü tatlı (20 adet sütlaç, 20 adet kazandibi ve 20 adet puding) olmak üzere, toplam 123 adet örnek materyal olarak kullanıldı.

Örnekler, Ocak-Şubat-Mart 2024 tarihlerinde Ankara ilindeki farklı süpermarket, pastane ve lokantalardan aseptik koşullarda temin edilerek Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarlarında analiz edildi. Süt ve sütlü tatlı örneklerinin ambalaj kontrolleri yapılarak, ürünün cinsi, üretim tarihi, son kullanma tarihi, parti numarası ile markası kaydedildi.

3.1.1. Analizlerde Kullanılan Besiyerleri ve Diğer Kimyasal Maddeler

Araştırmada, *B. cereus*'un izolasyonunda ön zenginleştirme aşamasında Tryptone Soy Broth (Oxoid, CM0129B), supplement olarak 10 mg/ml konsantrasyonda Polimiksin B (Sigma, P-1004, USA) kullanıldı. Katı besiyeri olarak ise Brilliance *Bacillus cereus* Agar Base (Oxoid, CM1036) ve selektivite için, Brilliance *Bacillus cereus* selektif supplement (Polimiksin B 53,000 IU+ Trimetoprim 5 mg, Oxoid, SR0230E) ile Compass *Bacillus cereus* Agar Base (Biokar, BK189HA) kullanıldı.

Elde edilen *B. cereus* şüpheli izolatların ileri ki moleküler analizlerde kullanabilmeleri amacıyla, Brain Hearth Infusion Broth (Oxoid, CM1135) ve doğrulanan izolatların -20 °C'de stoklanması için %15'lik konsantrasyonda Gliserinli-Brain Hearth Infusion Broth hazırlanarak kullanıldı. Ticari firmanın önerdiği doğrultuda kullanılan tüm katı ve sıvı besiyerleri hazırlandı ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika 1 atmosfer basınçta sterilize edilerek kullanıldı. Sterilizasyon işlemi takiben 50 °C'ye soğutulan besiyerleri içerisine selektif supplement ilave edildi.

3.1.2. Moleküler Analizlerde Kullanılan Malzemeler

Primerler

Süt ve sütlü tatlılarda *B. cereus* varlığını saptamak amacıyla yapılan araştırmada, katı besiyerinde üreyen *B. cereus* şüpheli izolatlar Wang ve ark. (1997) tarafından önerilen hemolizin gen primer dizilimi (F1; CTGTAGCGAATCGTACGTATC ve R1; TACTGCTCCAGCCACATTAC-185 bp) kullanılarak hemolizin geni bakımından doğrulandı. Takiben *B. cereus* olarak doğrulanan izolatlarda 4 geni hedef alan (*hbl*, *nhe*, *cytK*, *ces*) multipleks PCR tekniği uygulandı. Bu amaçla, Ehling-Schulz ve ark. (2005a) tarafından önerilen emetik forma yol açan toksin gen (*ces*) (F2; GGTGACACATTATCATATAAGGTG ve R2; GTAAGCGAACCTGTCTGTAACAACA - 1271 bp) ile Ehling-Schulz ve ark. (2006) tarafından önerilen diyarel forma yol açan toksin genlerin (*hbl*, *nhe*, *cytK*) *hbl* (F3; GTAAATTAIGATGAICAATTTC ve R3; AGAATAGGCATTCATAGATT- 1091 bp); *nhe* (F4; AAGCIGCTCTTCGIATTC ve R4; ITIGTTGAAATAAGCTGTGG- 766 bp); *cytK* (F5; ACAGATATCGGICAAAATGC ve R5; CAAGTIACTTGACCIGTTGC- 421 bp) primer çiftleri kullanıldı. Bu sıralanan primer çiftlerinin son konsantrasyonu, 10 pmol/μl olarak PCR miksinde kullanıldı.

Taq DNA Polymerase 2X Master Miks (1.5 mM MgCl₂ final concentration- Ampliqon, A140399)

Moleküler analizlerde kullanılan ticari hazır master miks toplam 50 μl'lik hacimde amplifikasyon sürecinde kullanıldı.

6X Jel Yükleme Solüsyonu (Thermo Scientific, R0611)

Amplikonların boyanması amacıyla agaroz jel elektroforezde, 6X Jel yükleme çözeltisi kullanıldı. 6X konsantrasyondaki stok jel yükleme çözeltisinden steril bir ependorf tüpü içerisine 10 μl konuldu ve üzerine 50 μl steril distile su eklendi. Bu şekilde 1X konsantrasyonda jel yükleme çözeltisi elde edildi.

Thermo Scientific 100 bp Plus DNA Ladder (Thermo Scientific, SM0321)

500 µl'lık hacimde olan DNA Ladder jele yüklemeye uygun olarak kullanıldı.

10X TAE Elektroforez Tampon Solüsyonu (ThermoScientific, 00204780)

Tampon solüsyonu, agaroz jel hazırlama ve agaroz jel elektroforezi yapılma sürecinde kullanıldı. 10X konsantrasyonda temin edilen stok TAE solüsyonundan 100 ml alınarak, distile su ile 1 litreye tamamlandı ve bu şekilde 1X TAE çalışma çözeltisi elde edildi.

Agarose (Bioshop, AGA001.100)

Hassas terazi kullanılarak 1,5 gram agaroz erlenmeyen içerisinde tartıldı ve üzerine 100 ml 1X TAE ilave edilerek, mikrodalga fırında çözdürülmesiyle %1,5'lik konsantrasyonda agaroz jel hazırlandı. Çözünen agaroz 50-60 °C'ye soğutulurken, içerisine 5 µl nükleik asit boyası (Safeview Classic, Abm, G108) eklendi.

Proteinaz K (Vivantis, GF-BA-050)

Proteinaz K son konsantrasyonu 20 mg/ml olacak şekilde, DNA ekstraksiyonunda kullanıldı.

Lizozim (Sigma-Aldrich, L2879-5G, USA)

Liyofilize lizozim konsantrasyonu 50 mg/ml olacak şekilde, DNA ekstraksiyonunda kullanıldı.

Nükleik Asit Ekstraksiyon Kiti (Vivantis, GF-BA-050)

DNA ekstraksiyonunda hazır ticari kit kullanıldı.

Pozitif Kontrol

Halk Sağlığı Genel M¼d¼rl¼ę¼, Ulusal Tıp K¼lt¼r Koleksiyonu Laboratuvarından temin edilen *Bacillus cereus* suşu pozitif kontrol olarak kullanıldı.

3.2. Y¼ntem

Farklı s¼permarket, pastane ve lokantalardan temin edilen s¼t ve s¼tl¼ tatlı ¼rnekleri (çiğ s¼t, past¼rize s¼t, UHT s¼t, s¼tlaç, puding, kazandibi) soğuk zincir altında laboratuvara ulaştırıldı. Laboratuvara gelen ¼rneklerde ilk olarak klasik k¼lt¼r tekniği ile *B. cereus* izolasyonu gerçekteştirildi (Tallent ve ark. 2012).

Elde edilen *B. cereus* ř¼pheli izolatlar hemolizin geni hedef alınarak *B. cereus* y¼n¼nden PCR y¼ntemi ile doğrulandı (Wang ve ark. 1997). PCR y¼ntemi ile doğrulan *B. cereus* izolatlarının diyarel ve emetik toksin genleri (*cytK*, *nhe*, *hbl*, *ces*) araştırıldı.

3.2.1. *Bacillus cereus*'un İzolasyon ve İdentifikasyon Aşamaları

3.2.1.1. ¼n Zenginleştirme Aşaması

Analiz edilecek ¼rneklerden aseptik koşullarda steril polietilen poşetlere 10'ar gram veya 10'ar mililitre tartıldı. Steril polietilen poşetlerin içerisindeki ¼rneklerin ¼zerine steril polimiksin B içeren Tryptic Soy Broth'dan 90 ml eklenerek, ¼rnekler stomacher'de (Interscience, France) 2 dk s¼re ile homojenize edildi ve 30 °C'de aerob koşulda 24 saat ink¼basyona bırakıldı.

3.2.1.2. Katı Besiyerine Ekim Aşaması

¼n zenginleştirme işlemi sonucunda, steril polietilen poşet içerisindeki ¼rneklerden aseptik koşullarda bir ¼ze dolusu alınarak, Brilliance *Bacillus cereus* agar ve Compass *Bacillus cereus* agara çizme plak y¼ntemi ile ekim yapıldı. Ekim yapılan petriyerler 24-48 saat, 30 °C'de aerob koşullarda ink¼basyona bırakıldı. İnk¼basyonun sonunda, plaklarda turkuaz yeşili pigmentasyon oluşturan koloniler *B. cereus* ř¼pheli olarak değerlendirildi. ř¼pheli *Bacillus cereus* kolonilerinin katı agardaki g¼r¼n¼m¼ şekil 3.1' de verilmiştir.



Şekil 3. 1. Şüpheli *B. cereus* kolonilerinin katı agardaki görünümü.

3.2.2. Moleküler Analizler

3.2.2.1. DNA Ekstraksiyon Aşaması

Katı agardan alınan şüpheli *B. cereus* kolonileri, içerisinde 3-4 ml Brain Heart Infusion Broth bulunan tüplerde süspanse edilerek, broth kültürü 18-24 saat, 37 °C’de aerob koşullarda inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda, her bir kültürden aseptik koşullarda 1’er ml alındı ve steril ependorf tüplerine aktarıldı. Ekstraksiyon protokolü kit içerisinde yer alan prosedüre göre uygulandı.

3.2.2.2. İzolatların PCR Yöntemi ile Doğrulanması

Bacillus cereus yönünden şüpheli kolonilerin doğrulanması amacıyla PCR tekniği uygulandı. Bu amaçla Wang ve ark. (1997) tarafından önerilen hemolizin geni primer çiftleri ve amplifikasyon koşulları kullanıldı. Ticari hazır master miksin önerdiği protokole göre PCR karışım içeriği hazırlandı. Çalışmada kullanılan PCR karışımının içeriği Çizelge 3.1.’de detaylı bir şekilde belirtilmiştir.

Çizelge 3. 1. Çalışmada kullanılan PCR karışımının içeriği

PCR Karışımı	Miktar
Hazır Master Miks (Ampliçon, A140399)	25 µl
Hemolizin geni BC-1	1 µl
Hemolizin geni BC-2	1 µl
PCR Water	20 µl
DNA	3 µl
Toplam	50 µl

PCR karışımı hazırlama işleminden sonra, hazırlanan örnekler Thermal Cycler'da (Techne Prime, UK) amplifikasyon işlemine tabi tutuldu. Wang ve ark. (1997) tarafından önerilen DNA amplifikasyon koşulları uygulandı ancak primer bağlanma sıcaklığı modifiye edilerek 51,5 °C olarak çalışmada kullanıldı. Kullanılan gen primer çifti ve amplifikasyon koşulları Çizelge 3.2' de detaylı şekilde belirtilmiştir.

Çizelge 3. 2. Hedeflenen gen ve amplifikasyon koşulları (Wang ve ark. 1997)

Hedeflenen Gen	Amplikon Büyüküğü (bp)	Amplifikasyon Koşulları
Hemolizin	185 bp	94 °C'de 15 sn ^{*1}
		94 °C'de 3 sn ^{*35}
		51,5 °C'de 10 sn ^{*35}
		74 °C'de 35 sn ^{*35}
		74 °C'de 2 dk ^{*1}

*: Siklus

3.2.2.3. Elektroforez Aşaması

1X TAE içeren tanktaki jel üzerine her bir örneğe ait amplikondan yaklaşık 5-6 µl kadar alınarak, agaroz jeldeki kuyucuklara yerleştirildi. DNA örnekleri ile jele pozitif kontrol, negatif kontrol ve DNA ladder (5 µl) yüklenerek 120 voltta 50 dakika süreyle elektroforez (Biometra, Power Pack P25) işlemi uygulandı. Süre bitiminde DNA ladder, pozitif, negatif kontrol ve DNA bantları UV transilluminatörde (UVP, USA) incelenerek, 185 bp'de bant veren amplikonlar *B. cereus* olarak doğrulandı.

3.2.2.4. *Bacillus cereus* İzolatlarında Toksin Genlerinin Varlığının Araştırılması

Araştırmada *B. cereus* olarak doğrulanan izolatlarda emetik toksin geni (*ces*) ve diyarel toksin genlerinin (*nhe*, *hbl*, *cytK*) varlığı multipleks PCR tekniği ile saptandı. Ticari hazır master miksin önerdiği protokole göre PCR karışım içeriği hazırlandı. Çalışmada kullanılan PCR karışımının içeriği Çizelge 3.3.'de detaylı bir şekilde belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan PCR karışımının içeriği

PCR Karışımı	Miktar
Hazır Master Miks (Ampliqon, A140399)	25 µl
10 pmol/µl konsantrasyonda <i>ces</i> -F	1 µl
10 pmol/µl konsantrasyonda <i>ces</i> -R	1 µl
10 pmol/µl konsantrasyonda <i>hbl</i> -F	5 µl
10 pmol/µl konsantrasyonda <i>hbl</i> -R	5 µl
10 pmol/µl konsantrasyonda <i>cytK</i> -F	2 µl
10 pmol/µl konsantrasyonda <i>cytK</i> -R	2 µl
10 pmol/µl konsantrasyonda <i>nhe</i> -F	1.5 µl
10 pmol/µl konsantrasyonda <i>nhe</i> -R	1.5 µl
PCR Water	3 µl
DNA	3 µl
Toplam	50 µl

Ehling-Schulz ve ark. (2005a) ve Ehling-Schulz ve ark. (2006) tarafından önerilen DNA amplifikasyon koşulları Çizelge 3.4.'de detaylı şekilde belirtilmiştir.

Çizelge 3. 4. Hedeflenen genler ve amplifikasyon koşulları (Ehling-Schulz ve ark. 2005a, Ehling-Schulz ve ark. 2006)

Hedeflenen Gen	Amplikon Büyüklüğü (bp)	Amplifikasyon Koşulları
<i>hbl</i>	1091 bp	94°C'de 15 dk ^{*1} 95°C'de 30 sn ^{*30} 49°C'de 30 sn ^{*30} 72 °C'de 1 dk ^{*30} 72 °C'de 2 dk ^{*30}
<i>nhe</i>	766 bp	
<i>cytK</i>	421 bp	
<i>ces</i>	1271 bp	

*: Siklus

Amplifikasyon işlemini takiben, elde edilen amplikonlar, hazırlanan agaroz jele yüklendi ve 120 voltta 1 saat elektroforez (Biometra, Power Pack P25) işlemi uygulandı. Süre bitiminde, her bir toksin geni için spesifik olan bantlar, UV transilluminatörde incelenip değerlendirildi.

3.2.3. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırma sonucu elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde yüzdellik hesaplamalar yapıldı.

4. BULGULAR

Analiz edilen 123 adet süt ve sütlü tatlı örneğinin 44 adedinde (% 35,77) *B. cereus* izole edilmiştir. Analiz bulguları ürüne özgü detaylandırıldığında, analize alınan toplam 63 adet süt örneğinin 24 adedinde (%38,10) ve 60 adet sütlü tatlı örneğinin ise 20 adedinde *B. cereus* (%33,33) izole edildi. Süt ve sütlü tatlı örneklerinde *B. cereus* varlığı izelge 4.1., 4.2 ve 4.3'te detaylı şekilde belirtilmiştir. Çalışmada elde edilen *Bacillus cereus* suşlarının agaroz jel elektroforez görüntüsü şekil 4.1. de gösterilmiştir.

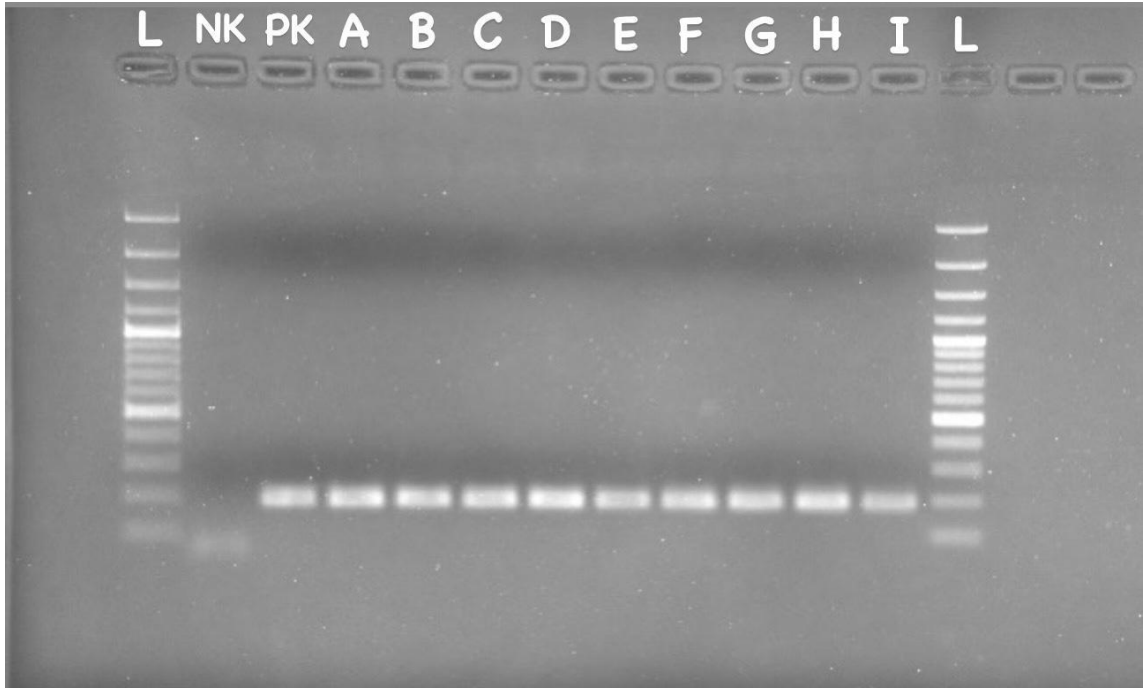
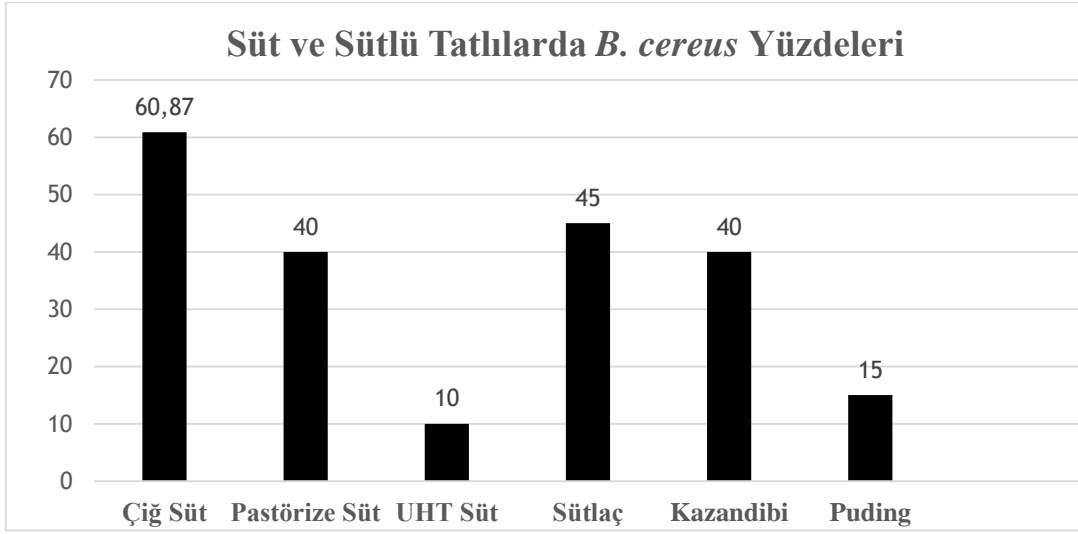
Çizelge 4. 1. Süt rneklerinde *B. cereus* varlığı

rnek	Numune Sayısı	Pozitif rnek Sayısı	Yüzde (%)
Çiğ Süt	23	14	60,87
Pastörize Süt	20	8	40
UHT Süt	20	2	10
Toplam	63	24	38,10

Çizelge 4. 2. Sütlü tatlı örneklerinde *B. cereus* varlığı

rnek	Numune Sayısı	Pozitif rnek Sayısı	Yüzde (%)
Sütlaç	20	9	45
Kazandibi	20	8	40
Puding	20	3	15
Toplam	60	20	33,33

Çizelge 4. 3. Süt ve sütlü tatlılarda *B. cereus* yüzdeleri



Şekil 4. 1. Elde edilen *Bacillus cereus* suşlarının agaroz jel elektroforez görüntüsü [L; DNA ladder (100 bp), NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol, A-I: *Bacillus cereus* olarak doğrulanan izolatlar (185 bp)].

Elde edilen *B. cereus* suşlarının toksin genlerinin dağılımı çizelge 4.4.' de detaylı şekilde belirtilmiştir. İzolatların en fazla *nhe* genine sahip olduğu bulundu. Bunu sırasıyla *cytK* ve *hbl* genleri izlemiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4. 4. Elde edilen *B. cereus* suşlarının toksin genlerinin dağılımı

Örnek	Diyarel Form Toksin Genleri			Emetik Form Toksin Geni
	<i>nhe</i>	<i>hbl</i>	<i>cytK</i>	<i>ces</i>
Süt	17	10	14	TE
Sütlü Tathlar	10	4	7	TE
Toplam	27	14	21	TE

TE: Tespit edilmedi

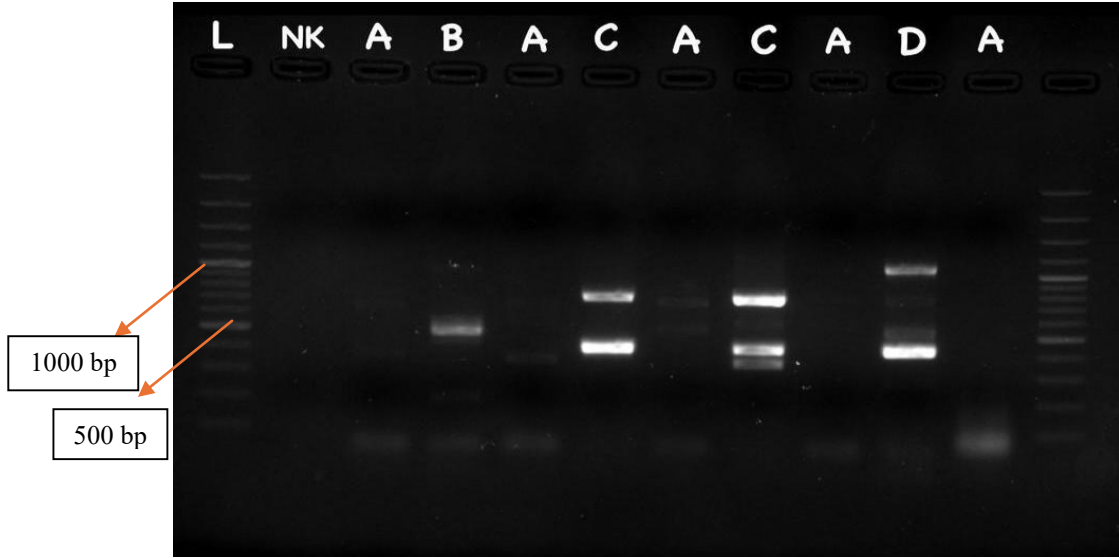
Bacillus cereus olarak doğrulanan 44 izolatın 16 tanesinde (%36,36) diyarel ve emetik toksin genleri (*cytK*, *nhe*, *hbl*, *ces*) saptanamadı. Çalışmada 44 izolatın 28 tanesinde (%63,63) bir veya daha fazla enterotoksin geni tespit edildi ancak izolatların hiçbirinde *ces* geni saptanamadı. İzolat bazında toksin genlerinin dağılımı incelendiğinde elde edilen 28 izolatın 9'unda (%32,14) enterotoksin kodlayan genlerin (*cytK*, *nhe*, *hbl*) tümü bulundu. İzolatların 3'nün (%10,71) sadece *nhe* geni, 1 tanesinin (%3,57) *cytK* ve *hbl* genleri, 11 tanesinin (%39,28) *cytK* ve *nhe* genleri, 4 tanesinin (%14,28) *nhe* ve *hbl* genlerine sahip olduğu belirlendi (Çizelge 4.5) Elde edilen bazı izolatlarda toksin genlerinin varlığı Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 de detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

Çizelge 4. 5. İzolat bazında toksin genlerinin dağılımı

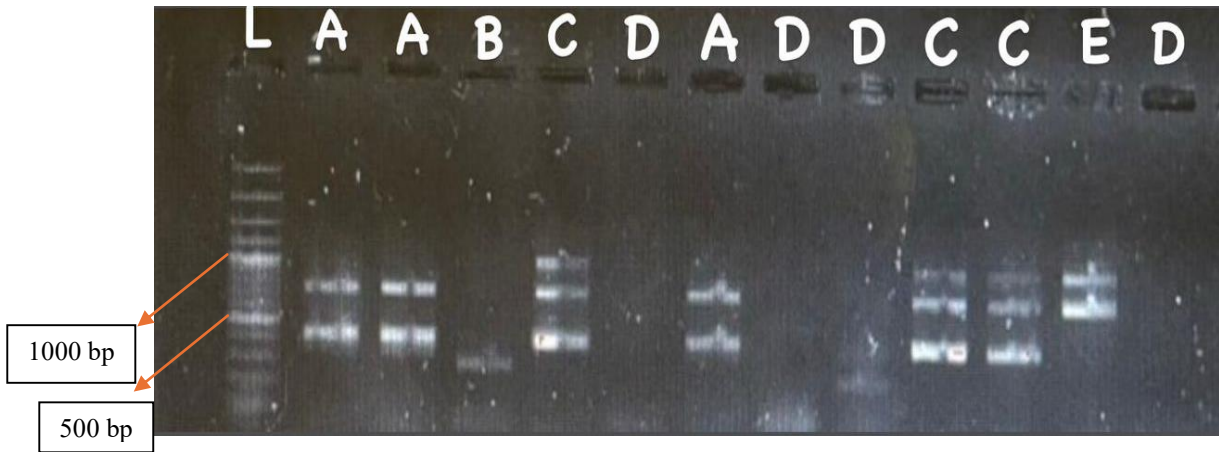
İzolat numarası (örnek)	Toksın genleri			
	<i>cytK</i>	<i>nhe</i>	<i>hbl</i>	<i>ces</i>
1 (Koyun çiğ süt)	-	+	+	-
2 (Koyun çiğ süt)	+	+	+	-
6 (Çiğ süt)	+	+	+	-
10 (Çiğ süt)	-	-	-	-
12 (UHT süt)	-	-	-	-
19 (Pastörize süt)	+	+	-	-
20 (Pastörize süt)	+	+	+	-
26 (Pastörize süt)	+	+	-	-
29 (Puding)	+	+	-	-
30 (Kazandibi)	+	+	-	-
37 (Sütlaç)	+	+	+	-

Çizelge 4.5. İzolat bazında toksin genlerinin dağılımı (devam).

İzolot numarası (örnek)	Toksın genleri			
	<i>cytK</i>	<i>nhe</i>	<i>hbl</i>	<i>ces</i>
41 (UHT süt)	+	+	-	-
42 (Çiğ süt)	-	-	-	-
44 (Pastörize süt)	+	+	-	-
47 (Sütlaç)	-	+	-	-
48 (Sütlaç)	-	+	+	-
49 (Puding)	-	+	+	-
50 (Sütlaç)	+	+	-	-
52 (Puding)	+	+	-	-
53 (Çiğ süt)	-	-	-	-
54 (Çiğ süt)	+	+	+	-
55 (Çiğ süt)	-	-	-	-
56 (Çiğ süt)	+	+	-	-
58 (Çiğ süt)	-	-	-	-
59 (Çiğ süt)	-	-	-	-
60 (Çiğ süt)	+	+	+	-
62 (Çiğ süt)	+	+	+	-
63 (Çiğ süt)	-	+	+	-
68 (Kazandibi)	-	-	-	-
69 (Sütlaç)	-	-	-	-
70 (Sütlaç)	-	+	-	-
91 (Pastörize süt)	-	+	-	-
97 (Pastörize süt)	+	+	+	-
98 (Pastörize süt)	+	+	+	-
110 (Sütlaç)	-	-	-	-
111 (Sütlaç)	-	-	-	-
112 (Kazandibi)	-	-	-	-
113 (Kazandibi)	-	-	-	-
114 (Pastörize süt)	+	+	-	-
115 (Sütlaç)	-	-	-	-
116 (Kazandibi)	+	+	-	-
117 (Kazandibi)	-	-	-	-
119 (Kazandibi)	+	-	+	-
121 (Kazandibi)	-	-	-	-



Şekil 4. 2. Elde edilen bazı izolatlarda toksin genlerinin varlığı [L; DNA ladder (100 bp), NK: Negatif Kontrol, A: hiçbir gen tespit edilemeyen izolatlar, B: nonspesifik bant, C: cytK ve nhe pozitif izolatlar (421 bp, 766 bp), D: cytK ve hbl pozitif izolatlar (421 bp, 1091 bp)].



Şekil 4. 3. Elde edilen bazı izolatlarda toksin genlerinin varlığı [L; DNA ladder (100 bp), A: cytK ve nhe pozitif izolatlar (421 bp, 766 bp), B: nonspesifik bant, C: cytK, nhe ve hbl pozitif izolatlar (421 bp, 766 bp, 1091 bp), D: hiçbir gen tespit edilemeyen izolatlar, E: hbl ve nhe pozitif izolatlar (766 bp, 1091 bp)].

5. TARTIŞMA

Çalışma kapsamında incelenen toplam 123 adet süt ve sütlü tatlı örneğinin (çiğ süt, pastörize süt, UHT süt, sütlaç, kazandibi ve puding) 44 adedinde (% 35,77) *B. cereus* izole edilmiştir. Süt örnekleri için analiz bulguları ürüne özgü detaylandırıldığında, 23 adet çiğ süt örneğinin 14 adedinde (%60,87), 20 adet pastörize süt örneğinin 8 adedinde (%40), 20 adet UHT süt örneğinin 2 adedinde (%10) *B. cereus* saptanmıştır. Sütlü tatlı örnekleri için analiz bulguları ürüne özgü detaylandırıldığında, 20 adet sütlaç örneğinin 9 adedinde (%45), 20 adet kazandibi örneğinin 8 adedinde (%40) ve 20 adet puding örneğinin 3 adedinde (%15) *B. cereus* saptanmıştır. Çalışmada toksin genlerin saptanması için yapılan multipleks PCR sonucunda toplam 28 izolatta enterotoksin geni tespit edildi ve izolatlarda diyarel forma yol açan genler (*nhe*, *hbl*, *cytK*) saptanırken, emetik forma yol açan *ces* geni saptanamamıştır.

Ahmed ve ark. (1983), tarafından yapılan çalışmada, toplamda 200 adet süt (100 adet çiğ süt, 100 adet pastörize süt) *B. cereus* yönünden incelenmiştir. 100 adet çiğ süt örneğinin 9 adedinde (%9), 100 adet pastörize süt örneğinin 35 adedinde (%35) *B. cereus* izole edilmiştir. Hassan ve ark. (2010), tarafından yapılan çalışmada, 50 adet çiğ süt örneği *B. cereus* yönünden incelenmiş ve 15 adedinde (%30) *B. cereus* izole edilmiştir. Gao ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada 258 adet pastörize süt örneği *B. cereus* yönünden incelenmiş ve 70 adedinde (%27) *B. cereus* izole edilmiştir. Can ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada, 35 adet çiğ süt örneği *B. cereus* yönünden incelenmiş ve 12 adedinde (%34,2) *B. cereus* izole edilmiştir.

Araştırmacıların (Ahmed ve ark. 1983, Hassan ve ark. 2010, Gao ve ark. 2018, Can ve ark. 2022) çalışma bulguları, yapılan bu çalışma ile karşılaştırıldığında çiğ ve pastörize süt örneklerinde *Bacillus cereus* yüzdesi daha düşük oranlarda saptanmıştır. Süt örneklerinde *Bacillus cereus* düzeyinin daha düşük oranlarda saptanması işletmelerde iyi hijyen uygulamalarının (GHP) daha düzenli bir şekilde yürütülmesi, uygun pastörizasyon ve muhafaza koşullarının sağlanmasına bağlanabilir.

Chitov ve ark. (2008), tarafından yapılan çalışmada, 18 adet pastörize süt örneği *B. cereus* yönünden incelenmiş ve pastörize süt örneklerinin tümünden *B. cereus* izole edilmiştir. Gündoğan ve Avcı (2014), tarafından yapılan çalışmada Ankara ilindeki üç farklı süt işletmesinden alınan 50 adet çiğ süt örneğinin 45 adedinde (%90) *Bacillus cereus* izole edilmiştir. Kumari ve Sarkar (2014), tarafından yapılan çalışmada 55 adet pastörize süt örneği *B. cereus* yönünden incelenmiş ve pastörize süt örneklerinin tümünde (%100) *B. cereus* izole edilmiştir.

Araştırmacıların (Chitov ve ark. 2008, Gündoğan ve Avcı 2014, Kumari ve Sarkar 2014), yapmış oldukları bu çalışma bulguları, yapılan bu çalışmanın bulguları ile karşılaştırıldığında daha yüksek oranda *B. cereus* izole edildiği saptanmıştır. Bu durum, mikroorganizmanın çiğ süte toprak, hava, su, inek dışkısı veya sağım ekipmanlarından bulaşabilmesi, süt tesislerindeki hijyenik koşullarının yetersiz olması, başlangıç mikroorganizma yükünün yüksek olması, pastörizasyon işlemi sürecinde (ısı-zaman parametresinde) yaşanan teknolojik sorunlar veya pastörizasyon işlemi sonrası yaşanabilecek kontaminasyon ve uygun olmayan muhafaza koşullarına bağlanabilir. Ayrıca araştırmacıların (Gündoğan ve Avcı 2014, Kumari ve Sarkar 2014) analiz ettiği örnek sayısı yapılan bu çalışmada analiz edilen örnek sayısından fazla olması, süt örneklerinde *B. cereus*'un saptanma yüzdesinin daha yüksek oranda tespit edilmesi ile ilişkilendirilebilir.

Radmehr ve ark. (2020) tarafından Ağustos 2016-Şubat 2018 yılları arasında Avustralya'da yapılan çalışmada toplam 97 örneğin (60 adet çiğ süt ve 37 adet pastörize süt) 41 adedinden (%42,3) *B. cereus* izole edilmiştir. 60 adet çiğ süt örneğinin 20 adedinde (%33,3), 37 adet pastörize süt örneğinin 21 adedinde (%56,8) *B. cereus* saptanmıştır. Araştırmacıların çalışmasındaki çiğ süt örneklerinde izole edilen *B. cereus* yüzdesinin, yapılan bu çalışma ile karşılaştırıldığında daha düşük oranlarda çıkması sağım koşullarının hijyenik olması ile ilişkilendirilebilir. Pastörize süt örneklerinde izole edilen *B. cereus* yüzdesi yapılan bu çalışma ile karşılaştırıldığında daha yüksek oranda saptanmış ve bu durum süt örneklerinin pastörizasyon sonrası depolama koşullarının uygun olmaması ve bunun sonucu oluşabilecek kontaminasyon, uygulanan ısı zaman parametresinin yetersiz olması ve başlangıç mikroorganizma düzeyinin yüksek olması ile ilişkilendirilebilir.

Salem ve ark. (2015), tarafından yapılan çalışmada 20 adet pastörize süt ve 10 adet UHT süt *B. cereus* yönünden incelenmiştir. Pastörize süt örneklerinin 8 adedinde (%40), UHT süt örneklerinin 2 adedinde (%20) *B. cereus* izole edilmiştir. Araştırmacının yapmış olduğu çalışmada pastörize sütlerdeki *B. cereus* yüzdesi yapılan çalışma ile benzerlik göstermekte iken; UHT sütlerde saptanan *B. cereus* oranı yapılan bu çalışmayla nazaran daha yüksek oranda saptanmıştır, bu durum çalışma ile karşılaştırıldığında UHT ısı-zaman parametresinin yetersiz olması ve sütün başlangıç mikroorganizma yükünün yüksek olması ile açıklanabilir.

Vidal ve ark. (2015), tarafından yapılan çalışmada, 60 adet çiğ süt örneğinin 31 adedinde (%51,6), 60 adet pastörize süt örneğinin 49 adedinde (%81,6) ve 180 adet UHT süt örneğinin 25 adedinde (%13,8) *B. cereus* izole edilmiştir. Araştırmaların çalışmasında pastörize ve UHT sütlerde *B. cereus* ile kontamine olma yüzdeleri, yapılan bu çalışma ile kıyaslandığında daha yüksek oranlarda saptanmıştır. Bu durum çalışma ile karşılaştırıldığında toplanılan numune sayısının yapılan bu çalışmada toplanılan numune sayısından fazla olması, ısı işlemi sonrası süt örneklerinin uygun olmayan koşullarda paketlenmesi ve örneklerin rekontaminasyonu ile ilişkilendirilebilir. *Bacillus cereus*'un çiğ sütler ile kontamine olma yüzdesi yapılan bu çalışmaya kıyasla daha düşük saptanması ise sağım hijyeninin iyi ve başlangıç mikroorganizma yükünün daha düşük olması ile ilişkilendirilebilir.

Yıbar ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada 53 adet çiğ süt, 50 adet pastörize süt ve 50 adet UHT süt *B. cereus* yönünden incelenmiştir. Çiğ süt örneklerinden 2 adedinde (%3,8), pastörize süt örneklerinden 13 adedinde (%26) *B. cereus* izole edilmiştir. UHT sütlerde *B. cereus* varlığı saptanamamıştır. Araştırmacılarının yapmış olduğu bu çalışmada süt örneklerinin *B. cereus* ile kontamine olma yüzdeleri, yapılan çalışmadan daha düşük oranlarda tespit edilmiştir. Çiğ ve pastörize sütlerin üretiminde iyi hijyenik uygulamaları (GHP) ile uygun sanitasyon koşullarının uygulanması süt örneklerinin *B. cereus* ile kontamine olma düzeyini azalttığı düşünülmektedir. UHT süt örnekleri açısından incelendiğinde, UHT süt örneklerinin hiçbirinde *B. cereus* saptanmaması UHT işlemi için uygun ısı-zaman parametrelerinin kullanımı ve sütün başlangıç mikroorganizma yükünün düşük olması ile ilişkilendirilebilir.

Osama ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada 25 adet market sütü ve 15 adet UHT süt *B. cereus* yönünden incelenmiştir. Çalışma sonucuna göre market sütlerinin tamamında, UHT sütlerinin sadece ise iki adedinde (%13,33) *B. cereus* izole edilmiştir. Araştırmacılarının yapmış olduğu bu çalışmada süt örneklerinin *B. cereus* ile kontamine olma yüzdeleri, yapılan çalışmadan daha yüksek oranda saptanmıştır. Bu durum, süt işletmelerinde hijyenik koşullarının yetersiz olması, pastörizasyon ve UHT işlemi sırasında yaşanabilecek teknolojik sorunlar, sütün başlangıç mikroorganizma yükünün yüksek olması ve ısı işlem sonrası yaşanabilecek kontaminasyonlara bağlanabilir.

Bahout (2000), tarafından yapılan çalışmada 24 adet UHT süt *B. cereus* yönünden incelenmiş ve 7 adedinde (%29,2) *B. cereus* izole edilmiştir. Ali ve ark. (2013), tarafından yapılan çalışmada 75 adet UHT süt örneğinin 46 adedinde (%61,33) *B. cereus* saptanmıştır. Lesley ve ark. (2017), tarafından yapılan çalışmada 20 adet UHT süt *B. cereus* yönünden incelenmiş ve 6 adedinde (%30) *B. cereus* izole edilmiştir.

UHT sütlerde *B. cereus* varlığı üzerine çalışma yapan araştırmacıların bulguları yapılan bu çalışmanın bulguları ile uyumluluk göstermektedir. Araştırmacıların (Bahout, 2000, Ali ve ark. 2013, Lesley ve ark. 2017) yapmış oldukları bu çalışmada süt örneklerinin *B. cereus* ile kontamine olma yüzdeleri, yapılan çalışmadan daha yüksek oranlarda saptanmıştır. Bu durum başlangıç kontaminasyon düzeyinin yüksek olması, yetersiz ısı-zaman parametresi, sütlerin uygun olmayan depolama koşullarında muhafaza edilmesi ve üretim tesislerinde uygulanan sanitasyon programlarının yetersiz ve güncel olmaması ile ilişkilendirilebilir.

Zhao ve ark. (2020), tarafından yapılan çalışmada 50 çiğ süt, 100 pastörize süt, 150 UHT süt örneği *B. cereus* yönünden incelenmiştir. Çiğ süt örneklerinin 13 adedinde (%26), pastörize süt örneklerinin 12 adedinde (%12) ve UHT süt örneklerinin 12 adedinde (%8) *B. cereus* izole edilmiştir. Araştırmacıların bulguları, yapılan bu çalışma bulgularından daha düşük oranlarda saptanmıştır. Bu durum başlangıç mikroorganizma yükünün düşük olması ve sanitasyon koşullarının uygun olmasına bağlanabilir.

Ağaoğlu ve ark. (1999), Van’da tüketime sunulan toplamda 20 adet sütlaç ve puding örneğinin 5 adedinde *B. cereus* saptamıştır. Ürün bazlı değerlendirildiğinde, 10 puding örneğinin 3 adedinde (%30), 10 sütlaç örneğinin 2 adedinde (%20), *B. cereus* izole edilmiştir. Araştırmacının bulguları, yapılan çalışma ile kıyaslandığında bulunma yüzdeleri açısından farklılık göstermektedir. Bu durum ürünün muhafaza koşulları ve tatlı yapımında kullanılan ham maddelerin hijyenik kalitesi ile ilişkilendirilebilir.

Çadırcı ve ark. (2013), tarafından yapılan çalışmada, 12 tane kazandibi, 30 tane puding ve 17 tane sütlaç örneği *B. cereus* yönünden incelenmiştir. 30 tane puding örneğinin 2 tanesinde (%6,66), 17 tane sütlaç örneğinin 1 tanesinde (%5,88) *B. cereus* izole edilirken; kazandibi örneklerinin hiçbirinde *B. cereus* izole edilememiştir. Araştırmacıların bulguları, yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında daha düşük oranlarda saptanmıştır. Bu durum, işletmelerdeki GMP ve sanitasyon koşullarının uygun olması, ısıtma işlem sonrası uygun muhafaza koşullarında depolanıp satışa sunulması ve ürünlerin taze tüketimi ile ilişkilendirilebilir.

El-Zamkan ve Mubarak (2017) tarafından yapılan çalışmada Mısır’da tüketime sunulan toplamda 30 adet sütlaç örneği *B. cereus* yönünden incelenmiştir. 30 adet sütlaç örneğinin 23 adedinde (%76,7) *B. cereus* izole edilmiştir.

Ahmed ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada toplamda 50 adet sütlaç örneği *B. cereus* yönünden incelenmiştir. 50 adet sütlaç örneğinin 37 tanesinde (%74) *B. cereus* izole edilmiştir. Amin ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada toplamda 50 adet sütlaç, 50 adet puding örneği *B. cereus* yönünden incelenmiştir. Sütlaç örneklerinin 31 adedinde (%62), puding örneklerinin 22 adedinde (%44) *B. cereus* izole edilmiştir. Morsy ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada 50 adet sütlaç örneği incelenmiş ve örneklerin 42 adedinde (%84) *Bacillus cereus* izole edilmiştir.

Birden fazla araştırmacı (El-Zamkan ve Mubarak 2017; Ahmed ve ark. 2018; Amin ve ark. 2018; Morsy ve ark. 2022) tarafından yapılan çalışmalarda sütlaç ve puding örneklerinde *B. cereus* ile kontamine olma yüzdeleri, yapılan bu çalışmadaki örneklerin yüzdesinden daha yüksek oranda saptandığı belirtilmiştir. Bu durum üretim sırasında yetersiz ısı işlemi, sanitasyon koşulları, uygun olmayan depolama ve soğutma koşulları altında muhafaza edilmesi ve satış yerlerindeki ürünlerin raf ömrü kurallarına uyulmamasına bağlanabilir.

Homouda ve ark. (2024) tarafından yapılan çalışmada 25 adet sütlaç örneği incelenmiş ve örneklerin 8 adedinde (%32) *Bacillus cereus* izole edilmiştir.

Ağaoğlu ve ark. (1999) ve Homouda ve ark. (2024) tarafından yapılan çalışmalarda, sütlaç örneklerinin *B. cereus* ile kontamine olma yüzdeleri, yapılan bu çalışmadaki sütlaç örneklerinin yüzdesinden daha düşük oranda saptanması sütlaç örneklerinin muhafaza koşullarının daha uygun biçimde sağlanması ve üretiminden sonra kısa süre içerisinde tüketilmesi ile ilişkilendirilebilir.

Kazandibi ülkemize özgü geleneksel bir sütlü tatlıdır. Yurtdışında konu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle kazandibi tatlısına ait veriler ülkemizdeki yapılan sınırlı sayıda çalışma ile karşılaştırılmıştır.

Araştırmacıların (Gao ve ark. 2018; Zhao ve ark. 2020), toksin genlerinin saptanması için yapmış oldukları multipleks PCR çalışmalarına göre, diyarel forma yol açan *nhe*, *hbl*, *cytK* genleri saptanırken, yapılan çalışmadan farklı olarak emetik forma yol açan *ces* geni saptanmıştır.

Araştırmacıların (Chitov ve ark. 2008; El-Zamkan ve Mubarak 2017; Radmehr ve ark. 2020), toksin genlerini saptamak için yapmış oldukları multipleks PCR sonucuna göre, diyarel forma yol açan *nhe*, *hbl* ve *cytK* genleri saptanırken; emetik forma yol açan *ces* genine izolatlarda rastlanılmamıştır. Yapılan bu çalışma ile karşılaştırıldığında diyarel ve emetik forma yol açan toksin genlerinin varlığı ile benzerlik göstermektedir.

Araştırmacıların (Osama ve ark. 2020; Yıbar ve ark. 2017), toksin genlerin saptanması için yapmış oldukları multipleks PCR sonucuna göre, bu çalışmaya benzer şekilde *nhe* ve *hbl* genleri saptanırken; çalışmadan farklı olarak *cytK* geni saptanmamıştır. Araştırmacıların (Çadircı ve ark. 2013), toksin genlerin saptanması için yapılan multipleks PCR sonucuna göre ise sütlaç ve puding örneklerinden izole edilen suşlarda *nhe* geni saptanırken, çalışmadan farklı olarak *cytK* ve *hbl* genleri saptanamamıştır. Can ve ark. (2022) toksin genlerin varlığı üzerine yaptıkları araştırmada, çiğ süt örneklerinden izole edilen suşların hiçbirinde diyarel ve emetik forma yol açan toksin genlerini (*nhe*, *hbl*, *cytK*, *ces*) saptamadıklarını belirtmektedirler.

Benzer şekilde, birçok araştırmacının (Chitov ve ark. 2008; Gao ve ark. 2018; Radmehr ve ark. 2020) yapmış olduğu araştırma sonuçlarına göre süt ve sütlü tatlı örneklerinde *B. cereus*' un diyarel formuna yol açan diğer toksin genlerine nazaran *nhe* geninin daha sıklıkla saptandığı belirlenmiştir.

6. SONUÇ

Çalışma süt ve sütlü tatlılarda toksijenik *Bacillus cereus* varlığına ilişkin bir değerlendirme sunmaktadır. Çalışma sonucunda Ankara ilinde satışa sunulan 123 adet süt ve sütlü tatlı örneklerinde *Bacillus cereus* varlığı sırasıyla %38,10 ve %33,33 saptanmıştır. İncelenen süt ve sütlü tatlı örneklerinde *Bacillus cereus* varlığının yüksek olduğu tespit edilmiş ve bu durum, işletmelerde üretilen çiğ sütün hijyenik olmayan koşullarda üretim süreci ve depolama koşulları ile ilişkilendirilmektedir.

Bununla beraber, *Bacillus cereus* ile kontamine olan süt ve süt ürünlerinin tüketiminden kaynaklanan gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesi veya azaltılması için ön koşul olarak çiftliklerde sağım hijyeni esaslı uygulamaların devamlılığı, etkili pastörizasyon işlemi (ısı-zaman), ürünlerin uygun muhafaza koşullarının sağlanması ile işletmelerde hizmet içi eğitim programlarının sürekliliği, olası kontaminasyonun risklerinin engellenmesi açısından oldukça önem teşkil etmektedir.

Bacillus cereus varlığının göz ardı edilmemesi gerektiğini ve mikroorganizmanın varlığını azaltıcı tedbirlerin alınması son derece önemlidir. Tüm bu sebepler doğrultusunda *Bacillus cereus*'u kontrol altına almak için gıda üretim zincirinin başlangıcından tüketiciye ulaşana kadar geçen sürede gereken hijyen ve kontrol prosedürleri düzenli ve planlı bir şekilde uygulanmalıdır. Bu amaçla, süt üretim işletmelerinde iyi üretim uygulamaları (GMP) ve tehlike analizi ve kritik kontrol noktaları (HACCP) sisteminin kurulması ve sürekliliği çiğ sütte başlangıç bakteri yükünün düşük olmasına olanak sağlamaktadır. Benzer şekilde çiftliklerde ve süt üretim işletmelerinde mikroorganizmanın biyofilm oluşturabilme yeteneğini ortadan kaldırmaya yönelik CIP (Cleaning In Place-Yerinde Temizleme) uygulamaları süt endüstrisi için oldukça büyük önem arz etmektedir. Bu şekilde süt ve süt ürünlerinin kontrolü düzenli şekilde yapıldığında gelecekte *Bacillus cereus* kaynaklı gıda zehirlenme olgularını azaltılması ve önlenmesine de yardımcı olabileceği sonucuna varıldı.

7. KAYNAKLAR

1. **Adams MR, Moss MO.** *Food Microbiology*. 3th. Ed., The Royal Society of Chemistry., UK, **2008**, s. 185-190.
2. **Ağaoğlu S, Ekici K, Alemdar S.** Van'da Tüketime Sunulan Bazı Gıda Maddelerinde *Bacillus cereus*' un Varlığı. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, **1999**, 9(1), 1-4.
3. **Ahmed A, El-Gamal A, Ibrahim A.** Prevalence of *Bacillus cereus* in some dairy desserts in Egypt. *Egyptian Journal of Food Safety*, **2018**, 5(1), 1-11.
4. **Ahmed AA, Moustafa MK, Marth EH.** Incidence of *Bacillus cereus* in milk and some milk products. *Journal of Food Protection*, **1983**, 46(2): 126-128.
5. **Ahmed F, Hassan MA, Amin R, Eleiwa N.** Incidence and Characterization of *Bacillus cereus* in Some Meat Products Using PCR. *Benha Veterinary Medical Journal*, **2019**, 37(1), 86-90.
6. **Ali ZI, Saudi AM, El-Esawy HA.** Incidence and public health significance of aerobic spore forming bacteria in Ultra Heat Treated (UHT) milk. *Journal of the Egyptian Veterinary Medical Association*, **2013**, 73(3), 531-544.
7. **Alina SO, Constantinescu F, Petruta CC.** Biodiversity of *Bacillus subtilis* group and beneficial traits of *Bacillus* species useful in plant protection. *Romanian Biotechnological Letters*, **2015**, 20(5): 10737-10750.
8. **Amn WF.** Occurrence of *Bacillus cereus* in some milk-based desserts. *Assiut Veterinary Medical Journal*, **2018**, 64(156), 41-46.
9. **Bahout AA.** Prevalence Of *Bacillus* Species In Uht Milk. *Assiut Veterinary Medical Journal*, **2000**, 42(84), 47-53.
10. **Beecher DJ, Macmillan JD.** Characterization of the components of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. *Infection and Immunity*, **1991**, 59(5), 1778-1784.
11. **Beecher DJ, Pulido JS, Barney NP, Wong AC.** Extracellular virulence factors in *Bacillus cereus* endophthalmitis: methods and implication of involvement of hemolysin BL. *Infection and Immunity*, **1995a**, 63(2), 632-639.
12. **Beecher DJ, Schoeni JL, Wong AC.** Enterotoxic activity of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. *Infection and Immunity*, **1995b**, 63(11), 4423-4428.
13. **Beecher DJ, Wong AC.** Improved purification and characterization of hemolysin BL, a hemolytic dermonecrotic vascular permeability factor from *Bacillus cereus*. *Infection and Immunity*, **1994**, 62(3), 980-986.
14. **Bhunja AK.** *Foodborne microbial pathogens: mechanisms and pathogenesis*. 2th. Ed., Springer, USA, **2018**, s. 193-207.
15. **Can HY, Sarı KB.** Malatya ilinde üretilen peynirlerden izole edilen *Bacillus cereus* suşlarında enterotoksin kodlayan genler ile antibiyotik direncinin araştırılması. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **2023**, 6(2), 1500-1512.
16. **Can HY, Elmalı M, Karagöz A, Dişli HB.** Psychrotrophic properties, toxigenic characteristics, and PFGE profiles of *Bacillus cereus* isolated from different foods and spices. *Ciência Rural*, **2022**, 52(4), 1-10.
17. **Chang Y, Xie Q, Yang J, Ma L, Feng H.** The prevalence and characterization of *Bacillus cereus* isolated from raw and pasteurized buffalo milk in southwestern China, *Journal of Dairy Science*, **2021**, 104(4), 3980-3989.
18. **Chen J, Zhang J, Zhan L, Chen H, Huang C ve ark.** Prevalence and antimicrobial-resistant characterization of *Bacillus cereus* isolated from ready-to-eat rice products in Eastern China. *Frontiers in Microbiology*, **2022**, 13, 964823.

19. **Chitov T, Dispan R, Kasinrerck W.** Incidence and diarrhegenic potential of *Bacillus cereus* in pasteurized milk and cereal products in Thailand. *Journal of Food Safety*, **2008**, 28(4), 467-481.
20. **Cliver DO, Riemann HP.** *Foodborne Infections and Intoxications*. 3th. Ed., Elsevier, UK, **2011**, s.563-582.
21. **Cufaoglu G, Ayaz ND.** Potential risk of *Bacillus cereus* in spices in Turkey. *Food Control*, **2022**, 132, 108570.
22. **Çadırcı Ö, Gücükoğlu A, Terzi G, Kevenk TO, Alişarlı M.** Determination of enterotoxigenic gene profiles of *Bacillus cereus* strains isolated from dairy desserts by multiplex PCR. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2013**, 19(5):869-874.
23. **Çürek S, Geniş B, Özden Tuncer B, Tuncer, Y.** Prevalence, Toxin Genes, and Antibiotic Resistance Profiles of *Bacillus cereus* Isolates from Spices in Antalya and Isparta Provinces in Türkiye. *Indian Journal of Microbiology*, **2023**, 63(4), 549-561.
24. **Drobniewski FA.** *Bacillus cereus* and related species. *Clinical microbiology reviews*, **1993**, 6(4): 324-338.
25. **Ehling-Schulz M, Guinebretiere MH, Monthán A, Berge O, Fricker M ve ark.** Toxin gene profiling of enterotoxic and emetic *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiology Letters*, **2006**, 260(2), 232-240.
26. **Ehling-Schulz M, Svensson B, Guinebretiere MH, Lindback T, Andersson M ve ark.** Emetic toxin formation of *Bacillus cereus* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains. *Microbiology*, **2005a**, 151(1), 183-197.
27. **Ehling-Schulz M, Vukov N, Schulz A, Shaheen R, Andersson M ve ark.** Identification and partial characterization of the nonribosomal peptide synthetase gene responsible for cereulide production in emetic *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, **2005b**, 71(1), 105-113.
28. **Elgushi AM, Elbarbary HA, Mohammed HA, Elmasry DMA.** Prevalence of *Bacillus cereus* in milk and some milk products in Egypt. *Benha Veterinary Medical Journal*, **2023**, 45(1), 118-123.
29. **El-Tawab A, Awad A, Elhofy F, Shawky NA, El Morsy D.** Molecular detection of antibiotic resistant bla gene in *B. cereus* isolated from meat products. *Benha Veterinary Medical Journal*, **2020**, 38(2), 152-155.
30. **El-Wahaab A, Saad SM, Hassan MA, Maarouf AA.** Occurrence of *Bacillus cereus* and its virulence genes in some meat products by multiplex PCR. *Benha Veterinary Medical Journal*, **2018**, 34(3), 158-166.
31. **El-Zamkan MA, Mubarak AG.** Detection of *B. cereus* and some of its virulence genes in some dairy desserts and children diarrhea. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, **2017**, 53(1), 28-38.
32. **Erol İ.** *Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi*. 2. Baskı, Ankara Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, **2022**, s. 184-188.
33. **Fagerlund A, Ween O, Lund T, Hardy SP, Granum PE.** Genetic and functional analysis of the *cytK* family of genes in *Bacillus cereus*. *Microbiology*, **2004**, 150(8), 2689-2697.
34. **Fang TJ, Chen CY, Kuo WY.** Microbiological quality and incidence of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in vegetarian food products. *Food Microbiology*, **1999**, 16(4), 385-391.
35. **Finlay WJJ, Logan NA, Sutherland AD.** *Bacillus cereus* emetic toxin production in relation to dissolved oxygen tension and sporulation. *Food Microbiology*, **2002**, 19(5), 423-430.
36. **Frankland GC, Frankland PF.** XI. Studies on some new micro-organisms obtained from air. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. (B.)*, **1887**, (178): 257-287.
37. **Gao T, Ding Y, Wu Q, Wang J, Zhang J ve ark.** Prevalence, virulence genes, antimicrobial susceptibility, and genetic diversity of *Bacillus cereus* isolated from pasteurized milk in China. *Frontiers in Microbiology*, **2018**, 9, 354899.

38. Gaur AH, Patrick CC, McCullers JA, Flynn PM, Pearson TA ve ark. *Bacillus cereus* bacteremia and meningitis in immunocompromised children. *Clinical Infectious Diseases*, **2001**, 32(10): 1456-1462.
39. Glasset B, Herbin S, Granier SA, Cavalié L, Lafeuille E ve ark. *Bacillus cereus*, a serious cause of nosocomial infections: Epidemiologic and genetic survey. *Plos One*, **2018**, 13(5): 1-19.
40. Gopal N, Hill C, Ross PR, Beresford TP, Fenelon MA ve ark. The prevalence and control of *Bacillus* and related spore-forming bacteria in the dairy industry. *Frontiers in Microbiology*, **2015**, 6: 1418.
41. Gopinathan A, Kumar A, Sen AC, Sudha S, Varma P ve ark. A case series and review of *Bacillus cereus* endocarditis from India. *The Open Microbiology Journal*, **2018**, 12(1), 28-33.
42. Granum PE, O'sullivan K, Lund T. The sequence of the non-haemolytic enterotoxin operon from *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiology Letters*, **1999**, 177(2), 225-229.
43. Griffiths MW, Schraft H. *Foodborne Diseases*. 3th. Ed., Academic Press, UK, **2017**, s. 395-405.
44. Griffiths MW. *Bacillus cereus* and Other *Bacillus* spp. *Pathogens and Toxins in Foods: Challenges and Interventions*, **2009**, 1-19.
45. Grutsch AA, Nimmer PS, Pittsley RH, Kornilow KG, McKillip JL. Molecular pathogenesis of *Bacillus* spp., with emphasis on the dairy industry. *Fine Focus*, **2018**, 4(2): 203-222.
46. Guinebretière MH, Auger S, Galleron N, Contzen M, De Sarrau B ve ark. *Bacillus cytotoxicus* sp. nov. is a novel thermotolerant species of the *Bacillus cereus* group occasionally associated with food poisoning. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **2013**, 63, 31-40.
47. Gundogan N, Avci E. Occurrence and antibiotic resistance of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in raw milk and dairy products in Turkey. *International Journal of Dairy Technology*, **2014**, 67(4), 562-569.
48. Güven K, Mutlu MB, Avcı O. Incidence and characterization of *Bacillus cereus* in meat and meat products consumed in Turkey. *Journal of Food Safety*, **2006**, 26(1), 30-40.
49. Hardy SP, Lund T, Granum PE. CytK toxin of *Bacillus cereus* forms pores in planar lipid bilayers and is cytotoxic to intestinal epithelia. *FEMS Microbiology Letters*, **2001**, 197(1), 47-51.
50. Harwood CR. *Bacillus*, Springer Link, New York, **1989**, s. 1-4.
51. Hassan GM, Al-Ashmawy MAM, Meshref AMS, Afify SI. Studies on enterotoxigenic *Bacillus cereus* in raw milk and some dairy products. *Journal of Food Safety*, **2010**, 30(3), 569-583.
52. Hauge S. Food poisoning caused by aerobic spore-forming bacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, **1955**, 18(3): 591-595.
53. Hefny A, Mohamed HM, Etokhy EI, Abd El-Azeem MW. Characterization of *Bacillus cereus* Isolated from Raw Milk and Milk Products. *Journal of Veterinary and Animal Research*, **2020**, 3, 205.
54. Homouda SN, El-tawab A, Awad, A. Prevalence and bacteriological investigation of *Bacillus cereus* isolated from meat and milk products in El-Gharbia governorate, Egypt. *Benha Veterinary Medical Journal*, **2024**, 46(1), 118-122.
55. Jeremiah C, Tajunisah I, Hanafi H, Gan YK. How Serious Are *Bacillus cereus* Ocular Infections? A Detrimental Effect of Undermining a Fulminant Disease (Case Report). *SN Comprehensive Clinical Medicine*, **2023**, 5(1), 158.
56. Jovanovic J, Ornelis VF, Maddar A, Rajkovic A. *Bacillus cereus* food intoxication and toxicoinfection. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2021**, 20(4): 3719-3761.

57. **Kotiranta A, Lounatmaa K, Haapasalo M.** Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and Infection*, **2000**, 2(2): 189-198.
58. **Kramer JM, Gilbert RJ.** *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. *Foodborne Bacterial Pathogens*, New York, **1989**, 19: 21-70.
59. **Kumari S, Sarkar PK.** *Bacillus cereus* hazard and control in industrial dairy processing environment. *Food Control*, **2016**, 69: 20-29.
60. **Kumari S, Sarkar PK.** Prevalence and characterization of *Bacillus cereus* group from various marketed dairy products in India. *Dairy Science & Technology*, **2014**, 94, 483-497.
61. **Kursun O, Guner A, Ozmen G.** Prevalence of *Bacillus cereus* in Rabbit Meat Consumed in Burdur-Turkey, Its Enterotoxin Producing Ability and Antibiotic Susceptibility. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2011**, 17.
62. **Lesley MB, Ernie SR, Kasing A, Son, R.** Detection of *Bacillus cereus* in formula milk and ultra high temperature (UHT) treated milk products. *International Food Research Journal*, **2017**, 24(3), 985.
63. **Lindbäck T, Hardy SP, Dietrich R, Sødtring M, Didier A ve ark.** Cytotoxicity of the *Bacillus cereus* Nhe enterotoxin requires specific binding order of its three exoprotein components. *Infection and Immunity*, **2010**, 78(9), 3813-3821.
64. **Logan NA, Rodríguez-Díaz M.** *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*, 2th. Ed., Wiley, UK, **2006**, s.139-158.
65. **Logan NA.** *Bacillus* and relatives in foodborne illness. *Journal of Applied Microbiology*, **2012**, 112(3), 417-429.
66. **Lund T, De Buyser ML, Granum PE.** A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. *Molecular Microbiology*, **2000**, 38(2), 254-261.
67. **Lund T, Granum PE.** Characterisation of a non-haemolytic enterotoxin complex from *Bacillus cereus* isolated after a foodborne outbreak. *FEMS Microbiology Letters*, **1996**, 141(2-3), 151-156.
68. **Mahler H, Pasi A, Kramer JM, Schulte P, Scoging AC ve ark.** Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus*. *New England Journal of Medicine*, **1997**, 336(16), 1142-1148.
69. **Milojevic L, Velebit B, Djordjevic V, Jankovic V, Lakicevic B ve ark.** Screening of *Bacillus cereus* presence in minced meat and meat products originating from Serbian retail facilities. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2019**. 333, 1-6.
70. **Mohamed AS, Alnakip ME, Aal SF.** Occurrence of *Bacillus cereus* in raw milk and some dairy products in Egypt. *Japanese Journal of Veterinary Research*, **2016**, 64, 95-103.
71. **Mohammadi B, Gorkina N, Smith SA.** Pathogenicity, toxin production, control and detection of *Bacillus cereus*. In *Foodborne Pathogens-Recent Advances in Control and Detection*. **2022**, 1-21.
72. **Moravek M, Dietrich R, Buerk C, Broussolle V, Guinebretière MH ve ark.** Determination of the toxic potential of *Bacillus cereus* isolates by quantitative enterotoxin analyses. *FEMS Microbiology Letters*, **2006**, 257(2), 293-298.
73. **Morsy B, El-Kholy A, Meshref A.** Monitoring of *Bacillus cereus* in rice pudding. *New Valley Veterinary Journal*, **2022**, 2(2), 53-57.
74. **Mortimer PR, McCann G.** Food-poisoning episodes associated with *Bacillus cereus* in fried rice. *The Lancet*, **1974**, 303(7865), 1043-1045.
75. **Osama R, Ahmed M, Abdulmawjood A, Al-Ashmawy M.** Prevalence and antimicrobial resistance of *Bacillus cereus* in milk and dairy products. *Mansoura Veterinary Medical Journal*, **2020**, 21(2), 11-18.
76. **Pehlivanlar S.** Enterotoksijenik *Bacillus cereus*' un çiğ köftede enterotoksin oluşturma yeteneğinin belirlenmesi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2003**.
77. **Pexara A, Govaris, A.** *Bacillus cereus*: an important foodborne pathogen. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, **2010**, 61(2), 127-133.

78. Radmehr B, Zaferanloo B, Tran T, Beale DJ, Palombo EA. Prevalence and characteristics of *Bacillus cereus* group isolated from raw and pasteurised milk. *Current Microbiology*, 2020, 77, 3065-3075.
79. Rahimi E, Abdos F, Momtaz H, Torki Baghbadorani Z, Jalali M. *Bacillus cereus* in infant foods: prevalence study and distribution of enterotoxigenic virulence factors in Isfahan Province, Iran. *The Scientific World Journal*, 2013, 1-5.
80. Ryan PA, Macmillan JD, Zilinskas BA. Molecular cloning and characterization of the genes encoding the L1 and L2 components of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(8), 2551-2556.
81. Salem NA, Jakee JE, Nasef SA, Badr H. Prevalence of *Bacillus cereus* in milk and milk products. *Animal Health Research Journal*, 2015, 3(2), 168-172.
82. Schneider KR, Parish ME, Goodrich RM, Cookingham T. Preventing Foodborne Illness: *Bacillus cereus* and *Bacillus anthracis*: FSHN04-05/FS103. *EDIS*, 2005 (1).
83. Schneider KR, Schneider RG, Silverberg R, Kurdmongkoltham P, Bertoldi B. Preventing Foodborne Illness: *Bacillus cereus*: FSHN15-06/FS269. *EDIS*, 2017 (2), 1-6.
84. Schoeni JL, Wong ACL. *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins. *Journal of Food Protection*, 2005, 68(3), 636-648.
85. Shawish R, Tarabees R. Prevalence and antimicrobial resistance of *Bacillus cereus* isolated from beef products in Egypt. *Open Veterinary Journal*, 2017, 7(4), 337-341.
86. Shimoyama Y, Umegaki O, Ooi Y, Agui T, Kadono N ve ark. *Bacillus cereus* pneumonia in an immunocompetent patient: a case report. *JA Clinical Reports*, 2017, 3(25), 1-5.
87. Shinagawa K, Ueno Y, Hu D, Ueda S, Sugu S. Mouse lethal activity of a HEp-2 vacuolation factor, cereulide, produced by *Bacillus cereus* isolated from vomiting-type food poisoning. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1996, 58(10), 1027-1029.
88. Sidiq R, Arif H. Investigation of toxigenic *Bacillus cereus* isolated from raw and cooked rice in Sulaimani city, KRG. *Euphrates Journal of Agricultural Science*, 2023, 15(1), 60-70.
89. Stenfors Arnesen LP, Fagerlund A, Granum PE. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology Reviews*, 2008, 32(4), 579-606.
90. Tallent SM, Kotewicz KM, Strain EA, Bennett RW. Efficient isolation and identification of *Bacillus cereus* group. *Journal of AOAC International*, 2012, 95(2): 446-451.
91. Tewari A, Abdullah S. *Bacillus cereus* food poisoning: international and Indian perspective. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52: 2500-2511.
92. Tewari A, Singh SP, Singh R. Incidence and enterotoxigenic profile of *Bacillus cereus* in meat and meat products of Uttarakhand, India. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(3), 1796-1801.
93. Tirloni E, Stella S, Celandroni F, Mazzantini D, Bernardi C ve ark. *Bacillus cereus* in Dairy Products and Production Plants. *Foods*, 2022, 11(17): 2572.
94. Tuipulotu DE, Mathur A, Ngo C, Man SM. *Bacillus cereus*: epidemiology, virulence factors, and host-pathogen interactions. *Trends in Microbiology*, 2021, 29(5): 458-471.
95. Turnbull PC, Jørgensen K, Kramer JM, Gilbert RJ, Parry JM. Severe clinical conditions associated with *Bacillus cereus* and the apparent involvement of exotoxins. *Journal of Clinical Pathology*, 1979, 32(3), 289-293.
96. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, Resmî Gazete 28157 (29 Aralık 2011).
97. Urhan E. Bebek ve Çocuk Beslenmesinde Kullanılan Gıdalarda *Bacillus cereus* Varlığı ile İzolatların Toksik Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hatay, 2022.
98. Vidal AMC, Rossi OD, Abreu ILD, Bürger KP, Cardoso MV ve ark. Detection of *Bacillus cereus* isolated during ultra high temperature milk production flowchart through random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. *Ciência Rural*, 2015, 46(2), 286-292.

99. Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg NR, Ludwig W ve ark. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2th. Ed., Springer Science & Business Media, USA, 2011, s.19-228.
100. Walderhaug M. *Bad bug book: handbook of foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins*. 2th. Ed., Center for Food Safety and Applied Nutrition, 2012, s. 92-95.
101. Wang RF, Cao WW, Cerniglia CE. A universal protocol for PCR detection of 13 species of foodborne pathogens in foods. *Journal of Applied Microbiology*, 1997, 83(6), 727-736.
102. Wijnands LM, Dufrenne JB, Zwietering MH, Van Leusden FM. Spores from mesophilic *Bacillus cereus* strains germinate better and grow faster in simulated gastro-intestinal conditions than spores from psychrotrophic strains. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, 112(2): 120-128.
103. Yıbar A, Çetinkaya F, Soyutemiz E, Yaman G. Prevalence, enterotoxin production and antibiotic resistance of *Bacillus cereus* isolated from milk and cheese. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2017, 23 (4): 635-642.
104. Zhao S, Chen J, Fei P, Feng H, Wang Y ve ark. Prevalence, molecular characterization, and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* isolated from dairy products in China. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(5), 3994-4001.

ÖZGEÇMİŞ

2017 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandı ve 2022 yılında mezun oldu. Aynı yıl Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında açılan sınavı kazanarak araştırma görevlisi olarak atandı.