

ENTEROTOKSİJENİK *BACILLUS CEREUS*'UN ÇİĞ KÖFTEDE ENTEROTOKSİN OLUŞTURMA YETENEĞİNİN BELİRLENMESİ*

Sevda PEHLİVANLAR¹

U. Tansel ŞİRELİ²

¹Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Hatay – TÜRKİYE

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Ankara – TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 15.12.2003

Determination of Ability of Enterotoxin Production by Enterotoxigenic *Bacillus cereus* in Çiğ Köfte

Summary

This study was undertaken to determine the existence, growth and enterotoxin producing ability of *Bacillus cereus* at different temperatures and time ranges in çiğ köfte, a traditional raw food product. In the first part, *Bacillus cereus* was found in 22 of 50 samples marketed in Ankara, with the mean contamination level of 2.55 log₁₀ cfu/g in positive samples. The 14 of *Bacillus cereus* detected in positive samples were able to produce enterotoxin. In the second part of this study, survival ability of *Bacillus cereus* and its enterotoxin production were determined in experimentally prepared raw meatballs inoculated with the enterotoxigenic *Bacillus cereus* NCTC-11145 at the levels of 10² (A group), 10⁴ (B group), and 10⁶ (C group) cfu/g, and enumerated at 0, 2, 4, 6, 8, 12, and 24 h of storage at 4 and 25°C. While no toxin production was determined in any of the 3 groups in 24 h storage at 4°C, toxins were detected in group C samples stored at 25 °C at 8, 12, and 24 h intervals by BCET-RPLA test. In summary, it was suggested that the traditional product of raw meatball could be a potential risk for public health due to ability of *Bacillus cereus* to grow and produce enterotoxin in raw meatball in appropriate conditions.

Key Words: *Bacillus cereus*, çiğ köfte, enterotoxin

Özet

Bu çalışma, geleneksel bir ürün olan çiğ köftelerde *Bacillus cereus*'un varlığı ve farklı sıcaklık derecelerinde ve sürelerde gelişimi ile enterotoksin oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla yapıldı. Çalışmanın birinci aşamasında, Ankara' da tüketime sunulan toplam 50 çiğ köfte örneğinin 22'sinde ortalama 2.55 log₁₀ kob/g düzeyinde *Bacillus cereus* saptandı. Pozitif örneklerin 14'ünde (%63.63) *Bacillus cereus*'un enterotoksin oluşturabildiği tespit edildi. İkinci aşamada ise, deneysel olarak hazırlanan ve enterotoksijenik *Bacillus cereus* NCTC-11145 referans suşu ile 10² (A grubu), 10⁴ (B grubu) ve 10⁶ (C grubu) kob/g düzeylerinde kontamine edilen çiğ köfte örnekleri 4 ve 25°C'lerde muhafaza edilerek muhafazanın 0., 2., 4., 6., 8., 12. ve 24. saatlerinde *Bacillus cereus* düzeyleri ve bunların enterotoksin üretme yeteneği araştırıldı. BCET-RPLA test kitiyle yapılan enterotoksin tayininde her üç grupta 4°C'deki muhafazada 24 saat boyunca toksin oluşumu saptanmazken, 25°C'deki muhafazada sadece C grubunda 8., 12. ve 24. saatlerde toksin oluşumu belirlendi. Sonuç olarak çiğ köftelerde *Bacillus cereus*'un gelişebileceği ve enterotoksin oluşturarak halk sağlığı açısından potansiyel risk taşıyabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus cereus*, çiğ köfte, enterotoksin

Giriş

Geleneksel bir ürün olan çiğ köfte, ülkemizin bir çok yöresinde sevilerek tüketilmektedir. Yapımı ve bileşimi bölgesel bazı farklılıklar göstermekle birlikte, genellikle 1:1 oranında yağsız sığır kıyması ve bulgur ile yöresel damak tadına bağlı olarak değişik baharatın, tuz, soğan, maydanoz, biber ve domates salçası katılarak elle yoğrulmasıyla

hazırlanan ve kısa sürede tüketilen bir et ürünüdür. Herhangi bir şekilde kontamine olmuş çiğ köftelerin çiğ olarak tüketilmesinin, halk sağlığı açısından ciddi problemler oluşturabileceği bilinmektedir (13).

Baharatla muamele edilmiş et ve et ürünleri önemli bir yere sahiptir. Teknik ve hijyenik şartlara sahip kesimhanelerden elde edilen çiğ etlerde

* Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

Bacillus cereus (*B. cereus*)'a düşük oranlarda rastlanılsa da, baharatlarda hijyenik kalitenin yetersizliği nedeniyle etken yüksek oranlarda tespit edilmektedir (14,15,31).

Gıda zehirlenmesine emetik enterotoksin, diyarel enterotoksin ve bunların enterotoksin ürünleri (extracelluler) olarak adlandırılan lesitinaz, proteaz, β -laktamaz ve cerolizin neden olmaktadır. Bu toksinler, diyarel tip gıda zehirlenmesi ve emetik tip gıda zehirlenmesi olmak üzere iki ayrı gıda zehirlenmesine yol açabilmektedir (20).

B. cereus'un diyarel toksini ile kontamine gıda maddesi alınmasından yaklaşık 6-15 saat sonra karın ağrısı, ishal ve bulantı ile karakterize semptomlar görülmektedir. Genelde olgularda kusma görülmez; bu formdaki toksin zehirlenmesi semptomları *Clostridium perfringens* tarafından oluşturulan gıda zehirlenmesine benzemektedir. Diyarel tipteki zehirlenmeler, emetik tipten daha yumuşak seyreder ve daha az görülmektedir (5,16). Bakteri 10^6 ve 10^7 kob/g seviyelerinde olduğu zaman toksin tespit edilebilir (10,25). Emetik tip zehirlenmelerde risk grubu gıdalar, özellikle tahıl ve pirinçli gıdalardır (10,16). Bu tip toksin zehirlenmelerinde inkubasyon periyodu 1-6 saattir. Bu olgularda semptomlar bulantı, kusma, ishal ve kramplarla karakterizedir. Bu nedenle *Staphylococcus aureus*'dan meydana gelen zehirlenmelerle karışabilmektedir (12,16,33).

Bu çalışmada, geleneksel bir ürün olan ve halk tarafından sevilerek tüketilen çiğ köftelerde bulunabilecek *B. cereus* varlığı ile kontaminasyon düzeyinin, muhafaza süresinin ve ısısının enterotoksin oluşturma yetenekleri üzerine etkilerinin saptanması ve halk sağlığı açısından potansiyel risk taşıyıp taşımadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma, iki aşamalı olarak gerçekleştirildi. Birinci aşamada, Haziran 2001 - Haziran 2002 dönemleri arasında Ankara'da tüketime sunulan toplam 50 çiğ köfte örneği kullanıldı. Örnekler, en az 250'şer gramlık partiler halinde ve aseptik koşullar altında alındı. Çalışmanın ikinci aşamasında ise, deneysel olarak aseptik koşullar altında hazırlanan ve 10^2 , 10^4 , 10^6 kob/g düzeylerinde enterotoksijenik *B. cereus* NCTC - 11145 suşu ile kontamine edilen ve 4 ve 25°C'lerde muhafaza edilen çiğ köfte örnekleri materyal olarak kullanıldı.

Deneysel çiğ köftenin yapılışı: Yaklaşık 1 kg çiğ köfte üretimi için, laboratuvar koşulları altında daha önceden analizleri yapılarak *B. cereus* içermediği saptanan 350 g bulgura, 25 g kırmızı pul biber ve 5 g karabiber, 150 g soğan, 100 g salça ve 10 g tuz ile

steril distile su ilave edilerek yoğruldu. Daha sonra 350 g yağsız kıyma çiğ köfte hamuru ile karıştırılarak macun kıvamı oluşana kadar yoğruldu. Geleneksel çiğ köfte kıvamına gelen hamur, partiler halinde ayrıldı.

***B. cereus* inokülasyonu:** *B. cereus* NCTC - 11145 suşu BHI broth'da zenginleştirildi. Mikroorganizma düzeyi belirlenen suşun steril peptonlu su ile dilüsyonları hazırlandı (10^2 , 10^4 , 10^6 kob/g). Hazırlanan dilüsyonlar, oluşturulan gruplardaki örneklerle 1/1 oranında homojen olarak inoküle edildi.

Mikrobiyolojik Analizler: Piyasadan alınan yaklaşık 200 g'lık partiler halinde çiğ köfte örnekleri aseptik koşullarda steril plastik torbalara 10 g tartılarak üzerine 90 ml %0.1'lik steril peptonlu su ilave edilip, 60 sn homojenize (Lab. Blender 400) edildi. Elde edilen 10^{-1} 'lik dilüsyondan gerekli sayıdaki desimal dilüsyonlar hazırlanarak yayma ve damla plak yöntemi ile ekimleri yapıldı (4,35). Aerob mezofil genel canlı Plate Count Agar'da 30°C'de aerob ortamda 48-72 saat (35); enterobakteriler Violet Red Bile Glucose Agar'da 37°C'de anaerob ortamda 24-48 saat (23,40); koliformlar Violet Red Bile Lactose Agar'da 37°C'de anaerob ortamda 24-48 saat (23); *Pseudomonas*'lar *Pseudomonas* Agar Base'de 30°C'de aerob ortamda 24-48 saat (38); stafilokok ve mikrokoklar Baird-Parker Agar Base'de 37°C'de aerob ortamda 24-48 saat (19, 29); maya ve küf Rose-Bengal Chloramphenicol Agar'da 25°C'de aerob ortamda 5 gün (25); enterokoklar Slanetz and Bartley Medium'da 37°C'de aerob ortamda 24-48 saat (4); laktobasiller LA-Agar'da, aside dirençli laktobasiller ise LS-Agar'da ekim yapılarak 30°C anaerob ortamda 48 saat inkube edildi (10).

***B. cereus* varlığının saptanması:** Çiğ köfte örneklerinde *B. cereus* varlığı TSE'ye (3) göre, identifikasyon amaçlı biyokimyasal testler Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology (32) esas alınarak belirlendi. Enterotoksin oluşturma yeteneği BCET-RPLA test kiti ile yapıldı (8).

Çiğ köfte örneklerinden steril şartlarda 10 g alınarak 90 ml peptonlu su (%0.1 pepton) ile homojenize edildi. Daha sonra gerekli desimal dilüsyonları hazırlanarak ($1/10^5$ düzeyine kadar) yayma ve damla plak yöntemleri ile Mannitol Egg-yayma ve damla plak yöntemleri ile ekimleri yapıldı. yolk Polymixin (MYP) Agar'a ekimleri yapıldı. MYP-Agar'da 30°C'de aerob koşullarda 18-40 saat inkubasyon sonucunda şekillenen 5 mm çapında pembe mor renkli etrafı opak zon ile çevrilmiş, kuru ve yüzeyi pürüzlü şüpheli koloniler sayıldı. Tipik kolonilerden 5 adet alınarak Nutrient Agar'da geliştirildikten sonra identifikasyon amaçlı biyokimyasal testleri yapıldı. Test sonuçlarına göre

Gram pozitif, katalaz, oksidaz, voges-proskauer, hareketlilik, jelatin, nişasta, nitrat, sitrat, hemoliz, pH 6,8-5,7'de üreme, glikoz ve ksiloz'dan asit oluşumu, sukroz ve maltoz'dan gaz oluşumu yönünden pozitif; indol, mannitol ve arabinoz'dan asit oluşumu, laktoz ve glikoz'dan gaz oluşumu yönünden negatif sonuç veren koloniler *B. cereus* olarak değerlendirildi (3, 32).

Deneysel olarak aseptik koşullar altında hazırlanan çiğ köftelerde *B. cereus*'dan ari kontrol (K) grubu, enterotoksijenik *B. cereus* NCTC-11145 referans suşu ile 10^2 kob/g (A grubu), 10^4 kob/g (B grubu) ve 10^6 kob/g (C grubu) düzeylerinde kontamine edilen toplam dört grup oluşturuldu. Bu grupların her biri buzdolabı sıcaklığı (4°C) ve oda sıcaklığı (25°C) derecelerinde 24 saat boyunca *B. cereus*'un gelişme seyri ve enterotoksin oluşturma yeteneğini belirlemek üzere her noktadan birer örnek alınarak 0., 2., 4., 6., 8., 12. ve 24. saatlerde analiz edildi. Deneysel çalışmalar üç kez tekrar edildi.

Diyarel Enterotoksin Oluşumunun Saptanması: Piyasadan toplanan çiğ köfte örneklerinde saptanan *B. cereus* suşları Brain Heart Infusion Broth'a (OXOID, CM 225) bir öze dolusu inokule edildi. Daha sonra $32-37^{\circ}\text{C}$ 'de çalkalamalı inkubatörde 250 devir/dakika hızla 18 saat inkube edildi. Deneysel olarak hazırlanan örneklerde ise 10 g örnek 10 ml %0,85'lik NaCl çözeltisi ile homojenize edildi. Elde edilen karışım, 4°C 'de 20 dakika 900 devirde santrifüj edilerek üstteki berrak kısım $0,2-0,45 \mu\text{m}$ gözenekli ve protein bağlama özelliği düşük filtreden (millipore SLVG) geçirildi ve daha sonra BCET-RPLA (Oxoid, TD 950) test kiti ile teste tabii tutuldu. Test kitinde oluşan düğme görünümü negatif, ağ-kafes görünümü pozitif kabul edildi (9,21).

İstatistiksel analizler: İnoküle edilen dozlar arasında, sıcaklık dereceleri ve aynı grup içinde dönemler arasındaki farklılıklar incelendi ve çalışmada elde edilen sonuçlar, daha sonra independent T-testi ile değerlendirildi (34).

Bulgular

Ankara'da tüketime sunulan toplam 50 çiğ köfte örneğinin %44'ünde (22/50) *B. cereus* pozitif bulundu. Pozitif örneklerdeki *B. cereus*

kontaminasyonu, ortalama $2.55 \log_{10}$ kob/g (minimum $2.0 \log_{10}$ kob/g, maksimum $4.3 \log_{10}$ kob/g) düzeyinde belirlendi. Çiğ köfte örneklerindeki *B. cereus*'un dağılımı Tablo 1'de verilmiştir. Çalışmada, BCET-RPLA test kiti ile yapılan enterotoksin tayininde *B. cereus* pozitif örneklerden elde edilen 22 suşun %64'ünün (14/22) enterotoksin sentezlediği belirlendi. Ankara'da tüketime sunulan toplam 50 çiğ köfte örneğinde saptanan mikroorganizmaların dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

Deneysel çiğ köfte örneklerinin ortalama aerob mezofil genel canlı sayısı $4.62 \log_{10}$ kob/g, laktobasil sayısı $3.25 \log_{10}$ kob/g, aside dirençli laktobasil sayısı $2.45 \log_{10}$ kob/g, enterobakter sayısı $1.15 \log_{10}$ kob/g, koliform sayısı $<2.00 \log_{10}$ kob/g, stafilokok-mikrokok sayısı $3.56 \log_{10}$ kob/g, enterokok sayısı $2.80 \log_{10}$ kob/g, *Pseudomonas* sayısı $3.37 \log_{10}$ kob/g, maya sayısı $2.95 \log_{10}$ kob/g ve küf sayısı $4.22 \log_{10}$ kob/g olarak saptandı. Kontrol grubu ile diğer deney grupları arasında mikroflora yönünden önemli fark tespit edilmedi ($p>0.05$). A, B ve C grubundaki deneysel çiğ köfte örneklerindeki *B. cereus*'un ortalama dağılımı Tablo 3'de verilmiştir.

Her üç deneysel çiğ köfte üretiminde 10^2 , 10^4 , 10^6 kob/g düzeylerinde inokule edilen gruplar arasında *B. cereus* yönünden görülen fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0.01$). *B. cereus*'un gelişimi yönünden sıcaklık dereceleri (4°C ve 25°C) ve aynı grup içinde dönemler (24 saat boyunca) arasındaki farklılıklar ise istatistiksel açıdan önemsiz bulundu ($p>0.05$) (Tablo 3).

Deneysel olarak kontamine edilen çiğ köfte örneklerinin mikrobiyolojik analizlerine paralel olarak BCET-RPLA test kiti ile yapılan enterotoksin testinde kontrol, A grubu (10^2 kob/g) ve B grubunda (10^4 kob/g) 4 ve 25°C 'lerde 24 saat süreyle muhafaza edilen örneklerde toksin oluşumu tespit edilemedi. 25°C 'de muhafaza edilen ve *B. cereus* ile 10^6 kob/g düzeyinde kontamine edilen C grubunda ise 8., 12. ve 24. saatlerde enterotoksin pozitif sonuç alınırken, 4°C 'deki muhafazada toksin oluşumu saptanmadı.

Tablo 1. Ankara'da satışa sunulan çiğ köfte örneklerinde *B. cereus*'un dağılımı

Numune sayısı (n)	Pozitif örnek sayısı ve yüzdesi		Pozitif örneklerin dağılımı ve yüzdesi					
	n		10^2 kob/g		10^3 kob/g		10^4 kob/g	
			n	%	n	%	n	%
50	22	44	19	38	2	4	1	2

Tablo 2. Ankara'da satışa sunulan çiğ köfte örneklerindeki mikroorganizma dağılımı ($\log_{10}$ kob/g)

Mikroorganizma	Ortalama	Minimum	Maksimum
<i>Bacillus cereus</i>	1.12	2.00	4.30
Aerob mezofil genel canlı	6.34	4.78	8.72
Laktobasil	5.33	4.15	8.30
Enterobakter	4.12	<2.0	6.47
Koliform	3.76	<2.0	6.15
Stafilokok/mikrokok	4.00	<2.0	6.30
Enterokok	3.47	<2.0	2.15
<i>Pseudomonas</i>	2.81	<2.0	4.60
Maya	3.30	1.07	5.15
Küf	2.38	<1.00	4.78

Tablo 3. Deneyisel olarak hazırlanan çiğ köfteye inoküle edilen *B. cereus*'un 4°C ve 25°C'de yaşamı ve enterotoksin üretimi ($\log_{10}$ kob/g)

Saat	A Grubu**		B Grubu**		C Grubu**	
	4°C	25°C	4°C	25°C	4°C	25°C
0	2.20±0.35	2.20±0.35	4.13±0.21	4.13±0.21	6.00±0.17	6.00±0.17
2	2.47±0.00	2.41±0.10	3.97±0.35	4.22±0.13	6.00±0.17	5.89±0.02
4	2.41±0.10	2.30±0.00	3.69±0.36	3.92±0.07	5.67±0.64	5.60±0.00
6	2.68±0.18	2.16±0.27	3.92±0.42	3.92±0.14	5.76±0.27	5.88±0.17
8	2.10±0.17	2.26±0.24	3.79±0.69	3.86±0.07	5.84±0.27	5.66±0.22**
12	2.30±0.00	2.41±0.10	3.60±0.30	3.87±0.23	5.72±0.22	5.41±0.16**
24	2.20±0.17	2.00±0.00	3.60±0.30	3.62±0.28	5.53±0.06	5.45±0.22**

A: 10^2 kob/g *B. cereus*; B: 10^4 kob/g *B. cereus*; C: 10^6 kob/g *B. cereus*

*: Farklı harflerle gösterilen gruplar arası farklılıklar istatistiksel açıdan önemli ($p<0.01$); sıcaklık dereceleri ve aynı grup içinde dönemler arasındaki farklılıklar ise önemsiz ($p>0.05$)

** : Enterotoksin pozitif

Tartışma

Yapılan çalışmada, Ankara piyasasından temin edilen toplam 50 adet çiğ köfte örneğinde %44 (22/50) oranında *B. cereus* izole ve identifiye edilmiştir. Bu sonuç, Küplülü ve ark.'nın (28) çiğ köftelerde tespit ettiği (%46) oranla benzerlik gösterirken, Aksu ve Ergün'ün (2) bulgularından (%29.1) ise yüksek bulunmuştur. Örneklerdeki *B. cereus* düzeylerinin değişiklik göstermesi farklı hammadde, hazırlama ve hijyen koşullarından kaynaklanabilir.

Çiğ köfte örneklerinde *B. cereus* varlığının yüksek oranda çıkması, çiğ köfte yapımında kullanılan temel katkı maddelerinin, özellikle de baharatların bu mikroorganizma ile yüksek oranda kontamine olmasının büyük etkisi olduğu söylenebilir. Konuma ve ark. (27) baharatların %39.7'sinin, Kamat ve ark. (26), %30'unun, Van Netten ve ark. (39) %42'sinin, Deambrosis ve Silva (11) %41'inin *B. cereus* ile kontamine olduğunu

bildirmişlerdir. Yöresel bazı farklılıklara rağmen, çiğ köftede kırmızıbiber ve karabiber tercih edilen temel baharatlardır ve bunların *B. cereus* ile kontaminasyon oranları yüksektir. *B. cereus* düzeyi ile ilgili olarak Pafumi (30), Erol ve ark. (14) ve Ağaoğlu ve ark. (1), karabiberlerde sırasıyla örneklerin %81.4'ünde 10^2 kob/g, %80'inde 10^2 kob/g ve %100 oranında 10^3 kob/g düzeylerinde *B. cereus* izole etiklerini bildirmişlerdir. Diğer taraftan Bhat ve ark. (7), kırmızıbiber örneklerinde 1.2×10^2 - 1.0×10^3 kob/g, Erol (13), kırmızıbiber örneklerinin %44'ünde 10^2 kob/g; Ağaoğlu ve ark. (1) ise, kırmızıbiber örneklerinde 6.0×10^2 kob/g, pul kırmızıbiberde 6.3×10^2 kob/g düzeylerde *B. cereus* izole etiklerini bildirmişlerdir.

Çiğ köftenin hammaddelerinden biri olan çiğ etin *B. cereus* ile kontaminasyonu baharata göre daha az, fakat yine de risk faktörüdür. Hefnavy ve ark. (22), kıyma örneklerinin %18'inde, Konuma ve ark. (27) %6.6'sında, Ternstöm ve Molin (37) sığır et örneklerinin %11'inde *B. cereus* saptamışlardır.

Ankara'da satışa sunulan çiğ köfte örneklerinde ortalama olarak $2.55 \log_{10}$ kob/g düzeyinde *B. cereus* bulunurken, enterotoksin oluşturma oranı %63.63 (14/22) gibi yüksek bir düzeyde tespit edilmiştir. Bu düzey toksin oluşumu için yeterli olmamasına rağmen, Gramun'un (17), bir çok ülkede düşük seviyelerde izole edilen *B. cereus* suşlarının en az yarısının enterotoksin pozitif olduğunu bildirmesi sonuçlarımızı desteklemektedir. Tan ve ark.'nın (36) gıda maddelerinde enterotoksin oluşumu için *B. cereus* düzeyinin daima $>10^5$ kob/g olması gerektiğini, ancak *B. cereus* kontaminasyonunun daha düşük seviyelerde olmasının da, enterotoksin oluşturmaya engel anlamına gelmediğini bildirmişlerdir. Bulduğumuz sonuçlar, Tan ve ark.'nın (36) bildirdiklerine paralellik göstermektedir.

Deneyisel çiğ köfte üretiminde toksin oluşumunun sadece C grubunda (25°C , 10^6 kob/g) tespit edilmesi, diğer gruplarda etkenin toksin oluşturabilecek düzeye ($\geq 10^5$ kob/g) ulaşamamasından ileri gelmektedir. Bu sonucu destekler şekilde, gıdalarda 10^5 kob/g vejetatif *B. cereus* bulunmasının, gıda zehirlenmesi olgusu için yeterli olduğu bildirilmektedir (18). Beuchat ve ark. (6) ise, et ekstratları üzerinde yaptıkları çalışmalarında $5.85 \log_{10}$ kob/g'dan düşük olan *B. cereus* varlığında enterotoksin saptamadıklarını bildirmişlerdir.

Kaynaklar

1. Ağaoğlu S, Sancak CY, Alishanlı M, Ekici K. Van piyasasında satışa sunulan bazı baharat çeşidinde *B. cereus*'un varlığı ve önemi. UÜ Vet Fak Derg 1999 (Baskıda).
2. Aksu H, Ergün Ö. Hazır yemeklerde *Bacillus cereus*' un varlığı. Gıda Sanayii Derg, 1995; 40: 29-32.
3. Anonim. *B. cereus* Sayımı İçin Genel Kurallar - Koloni sayım tekniği (30°C 'de). Türk Standardı, Ankara, 2000; TS 6404 EN ISO 7932.
4. Baumgart J. Microbiologische Untersuchung von Lebensmitteln, 3. Aufl., Hamburg. Behr's, 1993.
5. Bennett WR. *Bacillus cereus* Diarrheal Enterotoxin. In: Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual, 1998, 8th Ed. Chapter 15.
6. Beuchat, LR, Claveron, MR, Jaquette, CB. Effect of nisin and temperature on survival, growth, and enterotoxin production of psychrotrophic *Bacillus cereus* in beef grawy. Appl Environ Microbiol 1997; 63 (5): 1953-1958.
7. Bhat R, Geeta, H Kulkarni, PR. Microbial profile of cumin seeds and chili powder sold in retail shops in the city of Bombay. J Food Prot 1987; 50 (5): 418-419.
8. Brett MM. Kits for the detection of some bacterial food poisoning toxins: problems, pitfall and benefits., J Appl Microbiol Symp Supp 1998; 84: 11S-118S; In: Anon. Mikrobiyolojik Analiz Yöntemlerinde Yeni Yaklaşımlar. Hemakim Tıbbi Ürünler Tic Ltd Şti İstanbul, 1999.
9. Bridson EY. The Oxoid Manual. 8th Edition, Oxoid Ltd., Hampshire, 1988.
10. Collins CH, Lyne PM. Microbiological Methods. 5th ed. Butterworths, 1985.
11. Deambrosis N., Da Silva A. Incidence of *Bacillus cereus* in spices. 3rd World Congress Foodborne Infections and Intoxications. Berlin, 1992; 1: 315-316.
12. Doyle, MP. *Bacillus cereus*. Food Technol 1988; 4: 198.
13. Erol İ, Mutluer B, Vatansever L. A tipi enterotoksin oluşturan *Staphylococcus aureus*'un çiğ köfte de üreme ve toksin oluşturma yeteneğinin belirlenmesi. Gıda, 1993; 18 (5): 315-318.
14. Erol İ, Küplülü Ö, Karagöz S. Ankara'da tüketime sunulan bazı baharatın mikrobiyolojik kalitesi. AÜ Vet Fak Derg 1999; 46: 115-125.

15. Garcia S, Iracheta, F, Galvan, F, Heredia, N. Microbiological survey of retail herbs and spices from Mexican markets. J Food Prot 2001; 64 (1): 99-103.
16. Gilbert RJ. Foodborne infections and intoxications - recent problems and new organisms. Bri Food J 1988; 90 (2): 71-73.
17. Granum PE. *B.cereus* and its toxins. J Appl Bacteriol 1994; 76:615-665.
18. Granum PE, Lund, T. *Bacillus cereus* and its poisoning toxins. FEMS Microbiol Lett 1997; 157 (2): 223-228.
19. Greenwood MH, Coetzee EF, Ford BM, Gill P, Hooper WL, Matthews SCV, Patric S. The microbiology of selected retail food products with an evaluation of viable counting methods. J Hyg Comb 1984; 92: 62-67.
20. Griffiths MW. Toxin production by psychrotropic *Bacillus cereus* spp. present in Milk. J Food Prot 1990; 53(9): 790-792.
21. Harrigon WF. Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press, San Diego; 1998. In: Anon. Mikrobiyolojik Analiz Yöntemlerinde Yeni Yakaşimler. İstanbul. Hemakim Tıbbi Ürünler Tic.Ltd. Şti., 1999.
22. Hefnavy Y, Abdel-Rahman H, Lotfi A. Occurrence of *B. cereus* in selected meat products. Fleischwirtsch. 1984; 64 (11): 1371-1372.
23. Hitchins AB, Hartman PA, Todd ECD. Coliforms *Escherichia coli* and its toxins. In: Compendium of the Methods for the Microbiological Examinations of Foods. Ed. C. Vanderzant, D.F., Splittstoesser, American Public Health 1992; pp. 325-367.
24. Jaquette CB, Beuchat LR. Survival and growth of psychrotrophic *Bacillus cereus* in dry and constituted infant rice cereal. J Food Prot 1998; 61 (12): 1629-1635.
25. Jay JM. Modern Food Microbiology. 4th.Ed. NewYork, 1992; 501-503.
26. Kamat AS, Nerkar DP, Nair PM. *Bacillus cereus* in some Indian foods, incidence and antibiotic, heat, and radiation resistance. J Food Safety 1989; 10: 31-41.
27. Konuma H, Shingawa K, Tokumaru M, Onoue Y, Konno S, Fujino N, Shigehisa T, Kurata H, Kuwabara Y, Lopes CAM. Occurrence of *Bacillus cereus* in meat product, raw meat and meat product additives. J Food Prot 1988; 51 (4): 324-326.
28. Küplülü Ö, Sarımehtetoğlu B, Oral N. The Microbiological Quality of Çiğ Köfte Sold in Ankara. Turk J Vet Anim Sci 2003; 27 (2): 325-329.
29. Lancette GA, Tatini SR. *Staphylococcus aureus*. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods. Ed. C Vanderzant, DF Splittstoesser, D.C., 1992; pp. 623-633.
30. Pafumi J. Assessment of the microbiological quality of spices and herbs. J Food Prot 1986; 49 (12) : 958-963.
31. Rosenberger A, Weber H. Keimbelastung von Gewürzproben. Fleischwirtsch. 1993; 73 (8): 830-833.
32. Sneath PHA. Bergeys Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2, Williams and Wilkins 428. East Preston Street Baltimore MD, 21 222, USA. 1988.
33. Steinhart EC, Cochrane AB, Doyle EM. Food Safety. Food Research Institute Madison, Wisconsin, 1996; 401-414.
34. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. Biyoistatistik. Ankara. Özdemir Yayınları, 1994.
35. Swanson KMJ, Busta FF, Peterson EH, Johnson MG. Colony count methods. In.: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 3rd edition. Ed. Vanderzant C, Splittstoesser DF, American Public Health Association. Washington, D. C., 1992.
36. Tan A, Heaton S, Farr L, Bates J. The use of *Bacillus* diarrhoeal enterotoxin (BDE) detection using an ELISA technique in the confirmation of the aetiology of *Bacillus*- mediated diarrhea. J Appl Microbiol 1997; 82 (6): 677-682.
37. Ternstöm A, Molin G. Incidence of potential pathogens on raw pork, beef and chicken in Sweden, special reference to *Erysipelothrix rhusiopathiae*. J Food Prot 1987; 50 (2): 141-146.
38. Tryfinopoulou P, Drosinos EH, Nychas GJE. Performance of *Pseudomonas* CFC-selective medium in the fish storage ecosystems. J Microbiol Methods. 2001; 47: 243-247.
39. Van Netten P, Van De Moosdisk A, Van Hoensel P. Psychrotrophic strains of *Bacillus cereus* producing enterotoxin. J Appl Bacteriol 1990; 69: 73-79.
40. Villagarcia N. The scape and limitation of four methodes for the rapid identification of Enterobacteriaceae in foods. J Food Microbiol 1985; 20: 259-267.