

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AFYONKARAHİSAR İLİNDEKİ ANNE SÜTÜ ÖRNEKLERİNDE
AFLATOKSİN M₁ DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Öğr. Gör. Nazmiye KUYUCUOĞLU

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Yrd.Doç.Dr. Mehmet ÖZDEMİR**

**Bu tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 051.VF.05 Proje numarası ile desteklenmiştir**

Tez No: 2007-014

2007 - AFYONKARAHİSAR

KABUL VE ONAY

ÖNSÖZ

Mikotoksin oluşturan mantarlar dünyanın her tarafında bulunurlar. Mikotoksinli gıda maddeleri, ülkemizde olduğu gibi birçok ülkede de insan sağlığı açısından büyük sorun olarak değerlendirilmektedir. Günlük yaşantımızda sık görülen ve hemen hemen her çeşit gıda maddesinde üreyebilen küfler, son yıllarda üzerinde önemle durulan bir araştırma konusu olma özelliğini taşımaktadır. Her çeşit gıda maddesinde üreyebilen küfler, kalıntılar vasıtasıyla halk sağlığı üzerinde doğurabilecekleri olumsuzluklar bakımından günümüzde en çok ilgi duyulan konular arasında yer almaktadırlar.

İnsanlarda ve hayvanlarda karsinojenik, teratojenik, mutajenik ve zehirleyici etkiye sahip aflatoksinler başlıca *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius*) türü mantarlar tarafından doğal olarak üretilen sekonder metabolitlerdir.

Bu çalışma ile, Afyonkarahisar ilinde doğum yapmış annelerden alınan süt örneklerindeki AFM₁ düzeylerinin ELISA ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yüksek Lisans Tez çalışmamın planlanmasında ve her aşamasının yürütülmesinde yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen tez danışman hocam sayın Yrd.Doç.Dr. Mehmet ÖZDEMİR'e, A.K.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Hidayet YAVUZ'a, Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr. Yavuz O. BİRDANE'ye, maddi desteği sağlayan A.K.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na, örneklerin alınmasında gerekli kolaylıkları sağlayan sağlık kuruluşları yetkililerine ve Eşim Doç.Dr. Yahya KUYUCUOĞLU'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Kabul ve Onay.....	II
Önsöz	III
İçindekiler.....	IV
Şekiller.....	VI
Çizelgeler.....	VII
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Mikotoksinler ve Genel Özellikleri.....	1
1.2. Mikotoksinlerin Etki Şekilleri.....	4
1.3. Aflatoksinler ve Özellikleri.....	5
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER	10
2.1. Deney Kurgusu.....	10
2.2. Analiz Yöntemleri.....	10
2.2.1. Örneklerin Hazırlanması.....	10
2.2.2. Kimyasal Maddeler.....	11
2.2.3. Cihazlar.....	11
2.3. Test Prosedürü.....	11
2.4. Değerlendirme.....	12
2.5. İstatistik.....	12
3. BULGULAR	13
3.1. Yerleşim Yerlerine Göre Anne Sütlerinde AFM ₁ Düzeyleri....	13
3.2. Eğitim Durumuna Göre Anne Sütlerinde AFM ₁ Düzeyleri.....	15

4. TARTIŞMA	17
5. SONUÇ	21
6. KAYNAKLAR	22
EKLER Özgeçmiş	27

ŞEKİLLER

Şekil 3.1. Yerleşim yerlerine göre anne sütlerinde AFM₁ düzeyleri. 14

Şekil 3.2. Yerleşim yerlerine göre anne sütlerinde pozitif AFM₁ düzeyleri.15

Şekil 3.3. Eğitim durumuna göre anne sütlerinde AFM₁ düzeyleri..... 16

Şekil 3.4. Eğitim durumuna göre anne sütlerinde pozitif AFM₁ düzeyleri..... 16

ÇİZELGELER

- Çizelge 1.1.** Başlıca toksijenik mantar türleri ve önemli mikotoksinler..... 3
- Çizelge1.2.** Çeşitli Avrupa ülkeleri ve ABD de süt ve süt ürünlerindeki maksimum AFM₁ limitleri.....8
- Çizelge1.3.** Bazı gıdalar için Türk Gıda Kodeksi tarafından kabul edilen AFM limitleri.....9
- Çizelge 3.1.** Yerleşim yerlerine göre anne sütlerinde AFM₁ düzeyleri.....13
- Çizelge 3.2.** Eğitim durumuna göre anne sütlerinde AFM₁ düzeyleri.....15

ÖZET

Afyonkarahisar İlindeki Anne Sütü Örneklerinde Aflatoksin M₁ Düzeylerinin Belirlenmesi

Bebek beslenmesinde anne sütünün önemi bilinmektedir. Aflatoksin M₁ (AFM₁) içeren anne sütleri bebek sağlığı açısından büyük bir risk faktörüdür.

Bu çalışmada, Afyonkarahisar'da bulunan farklı hastahanelerde doğum yapmış annelerden, Eylül 2005-Nisan 2006 tarihleri arasında alınan 200 süt örneği kullanıldı ve AFM₁ miktarları ölçüldü.

Anne sütlerindeki AFM₁ ölçümleri için yarışmalı ELISA kullanıldı ve 200 anne sütü test edildi. İncelenen örneklerin 21 (%10.5)'i pozitif bulundu. Pozitif örneklerde ortalama AFM₁ oranı 8,45 pg/ml (5,66-12,53 pg/ml) olarak ölçüldü.

Sonuç olarak, anne sütlerinde saptanan AFM₁'in bebek sağlığı açısından önemli bir risk faktörü olabileceği ve ayrıca halkın gıda güvenliği konusunda bilgilendirilmesi ile anne sütlerine gıda yolu ile geçen AFM₁ oranının azaltılabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Anne sütü, Aflatoksin M₁, ELISA

SUMMARY

Determination of Aflatoxin M₁ Levels in Human Breast Milk in Province Afyonkarahisar

Important role of human breast milk in infant nutrition is well known. On the other hand, contamination of human breast milk with AFM₁ is considered as a potential risk for children health.

In this study, two hundred human breast milk samples from different hospital in Afyonkarahisar city were collected during 8 months (September 2005 to April 2006) and to determine the levels of AFM₁ in human breast milk from Afyonkarahisar of Turkey.

The competitive ELISA was used to determine the presence and levels of AFM₁ in 200 human breast milk samples were analysed. AFM₁ was detected in 21 (10.5%) of all samples at median concentrations of 8.45 pg/ml (ranging from 5.66 to 12.53 pg/ml).

As a result, contamination of human breast milk with AFM₁ appears to be a serious infant health problem in the city of Afyonkarahisar. The public should be educated about storing food and the hazards of aflatoxin ingestion to reduce the unacceptably frequent of aflatoxin in breast-milk.

Key Words: Human breast milk, Aflatoxin M₁, ELISA

1. GİRİŞ

Uygun ısı ve nem altında çeşitli zehirli metabolitler üreten bazı mantarlar (küfler) bulunmaktadır. İnsan ve hayvan sağlığı için zararlı olan, mantarlar tarafından üretilen bu metabolitler mikotoksin olarak adlandırılırlar (1).

1.1. Mikotoksinler ve Genel Özellikleri

Mikotoksinler yem ve besin maddeleri ile alındığında insan ve hayvanlarda zehirlenmelere ve ölümlere yol açabilirler. Mikotoksin terimi mantar anlamına gelen *myco* ve zehir anlamındaki *toksin* kelimelerinin birleştirilmesinden türetilmiştir. İnsan ve hayvanlarda mikotoksinlerin sebep oldukları olaylar mikotoksin zehirlenmesi (mikotoksikozis) olarak bilinir (2). Çevre, sosyal ve ekonomik durumlarla, küflerin büyümesine katkı sağlayan meteorolojik (nem, ısı) şartlar birleştiğinde endüstrileşmiş ve gelişmekte olan ülkelerin her ikisinde mikotoksikozis olayları ortaya çıkar (3).

Mikotoksin oluşturan mantarlar dünyanın her tarafında bulunurlar. Gerek sahada ve gerekse harmanlanma, depolanma, taşınma ve hazırlanma safhalarında, özellikle ısı ve rutubet olmak üzere, şartlar mantarların gelişmesine uygun olduğu takdirde, yem ve besinler mantarların istilasına uğrayarak, mikotoksinlerle kirlenebilirler. Bu kirlenmeler gerek hayvan sağlığı gerekse ekonomik işletmecilik yönünden, ayrıca kalıntılar vasıtasıyla halk sağlığı üzerinde doğurabilecekleri olumsuzluklar bakımından günümüzde en çok ilgi duyulan konular arasında yer almaktadırlar (2).

Mikotoksinler, mantarlar öldükten sonra da yem ve besinlerde uzun bir süre kalırlar. Bu maddelerde görülebilir bir küflenme olmadığında bile, mikotoksinler tehlikeli düzeyde bulunabilirler. Pişirme ve işleme uygulamaları sırasında, özellikle aflatoksinler başta olmak üzere, mikotoksinlerin önemli bir kısmının parçalanmadan kalması konunun önemini daha da artırmaktadır (2, 4).

Mantarlar bitki veya hayvan hücrelerinin yüzeyinde ya da içinde yaşarlar ve onlara lifli-tozlu bir görünüş kazandırır ve bu durum besin veya yemlerin küflenmesi olarak bilinir. Besin veya yem maddesindeki mantar sayısına göre de o maddenin kalitesi hakkında az çok fikir yürütülebilir. Buna göre 1 g'ındaki toplam mantar sayısı 5.000'e kadar olan besin veya yem hammaddeleri son derece iyi; 5.000-50.000 arasında olanlar iyi; 50.000-500.000 arasında olanlar orta; 500.000'in üzerinde olanlar ise zayıf kaliteli ve son derece tehlikeli olarak kabul edilirler. Bunlardan iyi kalitede olanlar depolandıklarında aşırı küflenme ve mikotoksinle kirlenme tehlikesi taşırken; 1 g besin veya yemdeki mantar sayısı 1.000.000'u aştığında ise küflenme gözle görülebilir hale gelir. Mantar sporları hava ve su ile yayılarak küflenme meydana getirir. Sporlar çoğalmalarına uygun olmayan şart veya yerlerde yıllarca canlı kalabilirken; çoğalmalarını teşvik eden ortamlarda çok hızlı bir şekilde üreyerek besin ve yem maddelerinin küflenmelerine ve mikotoksinlerle kirlenmelerine yol açmaktadırlar (2).

Günümüze değin varlığı ortaya konmuş mantar türlerinden 220–225 kadarının mikotoksin oluşturduğu, 20–25 dolayında mikotoksin grubunun da besin ve yemlerde doğal olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Mikotoksinlerle kirli yemleri yiyen hayvanlardan elde edilen besinlere geçen ve bu şekilde son tüketici durumundaki insanlara kadar ulaşabilen kalıntıları vasıtasıyla halk sağlığı açısından büyük tehlike oluşturlar. Güçlü zehir etkisi yapmalarının yanında, bazı mikotoksinlerin son derece güçlü karsinojenik, mutajenik, teratojenik ve bazılarının da östrojenik etkileri vardır (2, 4).

Doğal kirletici olarak besin ve yemlerde bulunabilen, insan ve hayvanların sağlığı yönünden önem taşıyan mikotoksinlerden bazıları şunlardır: *aflatoksinler*, *okratoksinler*, *zearalenon*, *sitrinin*, *patulin*, *kojik asit*, *sterigmatosistin*, *trikotesenler*, *PR toksin*, *slaframin*, *penisillik asit*, *sporidesmin*, *ergot alkaloidleri*, *streoviridin*, *alternariol*, *tenuazonik asit*, *rubratoksinler*, *sikloklorotin*, *luteoskirin*, *rugulosin*, *tremorin A*, *okzalik asit* gibi (2, 4). Mantarların başlıca toksijenik türleri ve onların sentezledikleri mikotoksinleri Çizelge 1.1'de gösterilmiştir (2, 5, 6).

Geçmiş yıllarda mikotoksikozis olguları ispat edilebilmesine rağmen, *A. flavus* ile kirlenmiş yer fıstığı tüketilmesinden sonra safra kanallarında hiperplazi ve akut karaciğer nekrozundan 100.000 hindinin öldüğü 1960'a kadar yoğun mikotoksin araştırmaları yapılmamıştır (5, 6).

Çizelge 1.1: Başlıca toksijenik mantar türleri ve önemli mikotoksinler (2, 5, 6).

Mantar Türleri	Mikotoksinler
<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>A. parasiticus</i> ; <i>Penicillium puberulum</i>	Aflatoksinler
<i>A. flavus</i>	Siklopiazonik asit
<i>A. ochraceus</i> ; <i>P. viridicatum</i> ; <i>P. cyclopium</i>	Okratoksinler
<i>A. clavatus</i> ; <i>P. patulum</i> ; <i>P. expansum</i>	Patulin
<i>Fusarium culmorum</i> ; <i>F. gramineatum</i> ; <i>F. sporotrichioides</i>	Deoksnivalenol
<i>F. roseum</i> ; <i>F. sporotrichioides</i> ; <i>F. poae</i> ; <i>F. nivale</i>	Trikotesenler (T-2 toksin)
<i>F. sporotrichioides</i> ; <i>F. graminearum</i> ; <i>F. poae</i>	Diasetoksiskirpenol
<i>F. culmorum</i> ; <i>F. graminearum</i> ; <i>F. roseum</i>	Zearalenone (F-2 toksin)
<i>F. moniliforme</i>	Fumonisinler
<i>Acremonium coenophialum</i> ; <i>Claviceps purpurea</i>	Ergot alkaloidler
<i>A. lolii</i> ; <i>Acremonium loliae</i>	Lolitre alkaloidler
<i>Phomopsis leptostromiformis</i>	Fomopsinler
<i>P. rubrum</i>	Rubratoksinler
<i>A. ochraceus</i>	Penisillik asit
<i>P. citrinum</i>	Sitrinin
<i>Sporidesmium bakeri</i> (<i>Pithomyces chartarum</i>)	Sporidesminler

Tüm hayvan türleri ve insanlarda zehirlenme yapabilmeleri, ayırım göstermeksizin hemen her çeşit besin ve yemde kirlenmeye yol açmaları, maymunlar da dahil pek çok hayvan türünde karsinojenik olmaları ve küflü yemleri yiyen hayvanların et, süt, yumurta gibi ürünlerinde kalıntılarında rastlanması sebepleriyle, aflatoksinler halen insanlarda, epidemiyolojik olarak karsinojen olabilmeleri başta olmak üzere, yoğun biçimde araştırılan en önemli mikotoksin grubunu teşkil ederler (2).

Küflenmeyle besin maddeleri ve yemlerde, gözle görülebilir renk ve şekil değişiklikleri yanında, ortamda üreyen mantar topluluğuna bağlı olarak gelişen

enzimatik ve kimyasal tepkimeler sonucu hızla bozulma başlar. Böylece, besin ve yemler su ve kuru madde kaybederler; başta nişastalı maddeler ve yağlar olmak üzere besin unsurları parçalanır, besleyici ve enerji değerleri azalır ve teknolojik özelliklerini kaybedebilirler. Mikotoksinlerin bu besinleri tüketen hayvanlarda ve insanlarda sıklıkla zehirlenmelere sebep oldukları bilinmektedir. Evcil hayvanlar mikotoksinlerle bulaşmış yemlerle beslendiklerinde sadece kendileri mikotoksinlerle kirlenmekle kalmayıp bu tür zehirleri et, süt, yumurta gibi ürünleriyle dolaylı yoldan insanlara da yansıtırlar (4, 7).

Mikotoksinler insan ve hayvanlarda ciddi zehirleyici etkiler oluştururlar. Mikotoksinlere bağlı şiddetli mikotoksisite; alınan zehirin miktarı, yaş, beslenme durumu, kişinin vücut direnci ve diğer kimyasal maddelerle sinerjizm gibi durumlara bağlı olarak oluşmaktadır. Mikotoksinler insan ve hayvanlarda belirli hastalıklara sebep olurlar. İnsanlarda zehirlilik belirtisi mantar türlerine göre değişiklik gösterir. Bazı mikotoksinler akut toksik etkili, bazıları belirli kanser türlerinden sorumlu olması nedeniyle, beslenme ve gıda güvenliği konuları son derece önem taşımaktadır (2).

Besinlerden kaynaklanan çok çeşitli zehirleyici faktörler arasında mantar invazyonları ve dolayısıyla mikotoksinlerden ileri gelen yem ve besin kirlenmeleriyle sıkça karşılaşmaktadır. Bu kirlenmelerin neden olduğu olaylar gerek toplum sağlığı gerekse hayvan sağlığı ve ekonomik işletmecilik yönlerinden günümüzde üzerinde en çok durulması gereken konuyu oluşturmaktadır. Son yıllarda, insanlarda görülen karaciğer kanseri olgularıyla küflenmiş besin tüketimi arasında sebepsel bir ilişki bulunabileceğine ilişkin görüşler giderek yaygınlaşmaktadır (2, 6).

1.2. Mikotoksinlerin Etki Şekilleri

Mikotoksinler doğrudan veya metabolik değişiklikler sonucu oluşan metabolitleri aracılığıyla etkilerini oluştururlar. Bunlar; *DNA kalıbı ile etkileşim; kalıp çıkması, yazımı ve çevirisinin engellenmesi; hücre zarı geçirgenliğinin değiştirilmesi; hücre*

solunumunun etkilenmesi ve hormonal etkidir (2).

Mikotoksinler ve DNA kalıbı arasındaki etkileşmeler sonucu DNA'da bilgi aktarım sırası değişerek, bileşiklerin mutajenik ve karsinojenik etkilerinin doğmasına sebep olarak, protein sentezini değişik aşamalarda bozabilirler. Aflatoksinler DNA'dan mRNA sentezini, patulin gibi bazı mikotoksinlerde RNA polimerazın etkinliğini bozarak etki ederler. Aflatoksin B₁ (AFB₁) ve patulin RNA sentezi ve zincir uzaması aşamalarını, trikotesenler ise ribozomun görevini bozarak protein sentezine mani olurlar. Sitrinin, rubratoksinler ve moniliformin gibi bazı mikotoksinler hücre zarının geçirgenliğini değiştirerek etki ederler. Mikotoksinlerin çoğu hücrelerde karbonhidrat metabolizmasını bozmak suretiyle, aflatoksinler başta olmak üzere sikloklorotin, rubratoksin, sitrinin ve trikotesenler glikojen ve yağ metabolizmasını bozmak suretiyle etki ederler. Bazı mikotoksinler oksidatif fosforilasyon zincirini etkilerken, zearalenon gibi bazı mikotoksinlerde canlıda, östrojene benzer bir şekilde, östrojen reseptörlerine bağlanarak etkilerini oluştururlar (2).

1.3. Aflatoksinler ve Özellikleri

İnsanlarda ve hayvanlarda karsinojenik, teratojenik, mutajenik ve zehirleyici etkiye sahip aflatoksinler başlıca *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius*) türü mantarlar tarafından doğal olarak üretilen sekonder metabolitlerdir (4,8,9). Aflatoksin terimi; AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂, AFM₁ ve AFM₂ diye bilinen 6 ana bileşiği kapsamaktadır. *A. flavus* sadece aflatoksin B'yi üretirken, *A. parasiticus* ve *A. nomius* ise aflatoksin B ve G'yi üretirler (2, 6, 10, 11).

Etki güçlerine göre azalan sıralama AFB₁>AFG₁>AFB₂>AFG₂ şeklindedir. AFB₁ ve AFM₁'in yüksek derecede hepatotoksik, mutajenik ve karsinojenik riske sahip olduğu deneysel olarak da gösterilmiştir. Aflatoksinler arasında en güçlü hepato karsinojenik ve en zehirli olan AFB₁'dir (2, 6, 12).

Aflatoksin bileşiklerinin isimlendirilmesinde ultraviyole (UV) ışık altında yaydıkları floresans ve sütle çıkarılma durumu esas alınmıştır. B (blue) serisindekiler UV ışık altında mavi, G (green) serisindekiler ise yeşil floresans yayarlar. AFB₁ ve B₂ ile kirlenmiş besinlerin ve yemlerin insanlar ve hayvanlar tarafından tüketilmesiyle süt ve süt ürünlerine geçebilen metabolitlere süt (milk, M) toksinleri adı verilmiştir. Aflatoksin M₁ (AFM₁) ve AFM₂, sırasıyla, AFB₁ ve AFB₂'nin sütle atılan metabolitleridir. (1, 6, 8).

Laktasyon dönemindeki hayvanlar ve insanlar AFB₁ ile kontamine yiyeceklere maruz kaldıklarında, alınan AFB₁ sitokrom P450 enzimi tarafından hidroksilasyona uğratarak metabolit halinde AFM₁ olarak sütle atılmaktadırlar (9, 13-17).

AFB₁ biyotransformasyon sonucu kendisinden 10 kez daha az karsinojenik etkiye sahip olan AFM₁'e dönüştürülür. (18). AFB₁'in ilk alınmasından 12-24 saat sonra sütte AFM₁ saptanabilir. AFB₁ alınması durdurulduğunda, sütteki AFM₁ düzeyi azalarak 72 saat sonra belirlenemeyecek düzeylere ulaşmaktadır (1, 19). AFB₁ alınması ile sütle çıkarılan AFM₁ arasındaki oran %1-3 arasında belirlenmiştir (1, 20), ancak bu oran Veldman (21) ve Pitet (22) tarafından % 6 olarak rapor edilmiştir. Genel olarak hayvan yemlerinde bulunan Aflatoksin B₁'in %0,3-6,2'sinin süte geçtiği belirtilmektedir (9). Kaya (23), incelediği 38 çiğ süt örneğinin %5,7'sinde 0,0004 ppm düzeyinde AFM₁ bulunduğunu rapor etmiştir. Özdemir (24), analiz edilen 110 keçi sütü örneğinin 93 (%84,54)'ünde farklı düzeylerde (5,16-116,78 ng/L) AFM₁ bulunduğunu bildirmiştir.

AFB₁, Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansına göre 1A sınıfı kanser maddesi olarak sınıflandırılırken, AFM₁ 2B sınıfı (insanlar için muhtemel kanser maddesi) olarak belirlenmiştir (25).

Mantarların gelişmesi ve aflatoksin sentezlemeleri ortam ile yem ve besin maddelerinin rutubet içeriği, ısı, havalandırma, tane besinlerde mekanik hasar, pH ve diğer birçok faktöre bağlılık gösterir. Bunlar içinde en önemlileri ortamın

ısı ve rutubet ile besin ve yemlerin nem içeriğidir.

Rutubet çeşitli ürünlerde, özellikle *Aspergillus* türleri olmak üzere, mantarların üremeye başladıkları kritik nem oranı genellikle %9 ve yukarıdır. Aflatoksin oluşturan mantarlar, 12-40°C arasında (özellikle 24-32°C) ve >%15 rutubet içeren, başta mısır, pamuk tohumu ve yer fıstığı olmak üzere, hemen her çeşit tahıllar, yem ve yem ham maddeleri ile besinlerde kolaylıkla üreyerek mikotoksin sentezlerler. Normal ısılarda son derece dayanıklı olan aflatoksinlerin tümüyle parçalanmaları için 300°C'nin üzerindeki sıcaklıklara gerek vardır. Bu sebeple, pastörizasyon ile sütlerdeki aflatoksin miktarında azalma olmaz (2).

Yem ve besinlerle alınan aflatoksinler sindirim kanalından sınırlı ölçüde emilirler. Dolaşıma geçen toksinler plazmadan çabuk ayrılırlar, başlıca karaciğer ve kaslarda dağılım gösterirler. Vücuda giren AFB₁'in %85-90'ı ilk 24 saat içinde dışkı (%75'i), idrar (%15-20'si) ve sütle değişmemiş metabolitleri halinde atılır. Dışkıyla bu ölçüde atılması ağızdan alınan toksinin sindirim kanalından sınırlı ölçüde emildiğini gösterir. Aflatoksinler vücutta çeşitli metabolik değişikliğe maruz kalırlar. AFB₁ molekülü C4'de hidrosillenerek AFM₁ şekillenir; aynı tepkimeye AFG₁ molekülü de maruz kalır ve AFGM₁ oluşur (2).

Aflatoksinler doğrudan etkili değildirler, karaciğerde uğradıkları metabolik değişiklikler sonucunda oluşan AFB₁-8,9 epoksit türevleri ile etkili olurlar. Klinik olarak zehirli ve karsinojenik etkileri hemen tümüyle bu etkin metabolitleri ile ilgilidir. Şekillenen epoksit türevleri özellikle karaciğerdeki DNA, stoplazmadaki steroid hormon reseptörleri, enzimler gibi birçok büyük moleküle kovalent olarak bağlanırlar. Steroid hormon reseptörlerine bağlanmaları ribozomlarda bozulmalara yol açabilir. Etkin aflatoksin molekülleri DNA ve RNA polimerazların etkinliğini hızlı şekilde engelleyerek protein ve enzim sentezi azalır. Ayrıca aflatoksinler bağışıklık sistemi, şeker, enerji ve yağların metabolizmasını da etkilerler (1, 2, 9, 26).

Süt ve süt ürünleri, başta çocuklar olmak üzere insanların beslenmesi için esastır. Bu nedenle birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de, süt, peynir ve diğer süt

ürünlerindeki AFM₁ için tolerans limitleri önceden belirlenmiştir. Avrupa Birliği ve Codeks Alimentarius, kurutulmuş veya işlenmiş süt ürünleri ile sıvı sütte AFM₁'in maksimum düzeylerinin 50 ng/kg'ı aşmaması gerektiğini belirtmiştir (27). Amerika'da ise sütteki AFM₁ düzeyinin 500 ng/kg'dan daha yüksek olmaması gerektiği belirtilmiştir (28). Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre süt ve ürünlerinde 0.05 ppb (50 ng/l), bebek mamalarında 0.02 ppb (20 ng/l) maksimum limittir (29). Farklı ülkelerdeki bazı gıdalarda bulunan AFM₁ limitleri Çizelge 1.2'de verilmiştir (2, 11). Ülkemizdeki bazı gıdalar için Türk Gıda Kodeksi tarafından kabul edilen aflatoksin limitleri de Çizelge 1.3'te gösterilmiştir (29). Bir çok ülke tarafından düzenli kontroller yapılmasına rağmen aflatoksinsiz süt üretimini başarmak her zaman mümkün olmamaktadır.

Çizelge 1.2: Çeşitli Avrupa ülkeleri ve ABD de süt ve süt ürünlerindeki maksimum AFM₁ limitleri (2, 11).

Mikotoksin	Ülkeler	Maksimum Limit (µg/kg veya µg/L; ppb)	Gıdalar	
AFM ₁	İsveç	0,05	Sıvı süt ürünleri	
	Avusturya	0,05	Süt	
	Almanya	0,05	Süt	
	Hollanda		0,01	Çocuk besinlerinde kullanılan süt
			0,05	Süt ve ürünler
			0,02	Tereyağı
			0,20	Peynir
	Belçika	0,05	Süt	
	İsviçre		0,02	Bebek maması
			0,05	Süt ve süt ürünleri
			0,25	Peynir
	ABD	0,5	Süt	
	Çek Cumhuriyeti		0,1	Çocuk sütü
			05	Erişkin sütü
	Fransa		0,03	Çocuk sütü
		0,05	Erişkin sütü	
		0,2	Süt tozu	

Çizelge 1.3. Bazı gıdalar için Türk Gıda Kodeksi tarafından kabul edilen AFM₁ limitleri (27).

Aflatoksin Tipi	Gıda Maddesi	Kabul Edilebilir En Yüksek Değer (µg/kg veya µg/L; ppb)
AFM ₁	Peynir	0,25
	Süt	0,05
	Süt tozu	0,5
	Bebek mamaları ve devam formülleri	0,02

Dünyada insan sütlerinde AFM₁ meydana gelmesi ile ilgili az sayıda bazı araştırmalar bulunmaktadır (13, 14, 16, 30-35). Türkiye’de konu ile ilgili herhangi bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Mikotoksinli gıda maddeleri, ülkemizde olduğu gibi birçok ülkede de insan sağlığı açısından büyük sorun olarak değerlendirilmektedir. Günlük yaşantımızda sık görülen ve hemen hemen her çeşit gıda maddesinde üreyebilen küfler, son yıllarda üzerinde önemle durulan bir araştırma konusu olma özelliğini taşımaktadır. Anne sütlerinde AFM₁ düzeyleri ile ilgili Afyonkarahisar ilinde daha önce yapılmış bir araştırma olmaması dolayısıyla, bu çalışma ilimizde yapılan ilk araştırma olma özelliğini taşımaktadır.

Bu çalışma ile, Afyonkarahisar ilinde doğum yapmış annelerden alınan süt örneklerindeki AFM₁ düzeylerinin ELISA yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. Deney Kurgusu

Çalışma materyali olarak, Afyonkarahisar ilindeki sağlık kuruluşlarında doğum yapmış gönüllü annelerden temin edilen 200 adet anne sütü örneği kullanıldı.

2.2. Analiz Yöntemleri

Eylül 2005–Nisan 2006 tarihleri arasında doğum yapan kadınlardan, anne sütleri hijyenik kurallara dikkat edilerek, ağzı kapaklı koyu renkli cam şişelere sağıldı. Süt örnekleri ışıktan korunarak ve soğuk zincire uyularak laboratuvara getirildi. Analiz yapılincaya kadar -20°C’de derin dondurucuda muhafaza edildi. Örneklerdeki AFM₁ düzeyleri kompetitif ELISA ile aflatoxin M₁ Ridascreen (36) ticari test kitleri kullanılarak bildirilen yöntemle Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı laboratuvarında ELISA okuyucusu kullanılarak belirlendi.

2.2.1. Örneklerin Hazırlanması

Anne sütü örnekleri Ridascreen® Aflatoksin M₁ ticari test kitinde belirtilen şekilde analiz için hazırlandı. Bu amaçla anne sütü örnekleri bir vorteks yardımıyla homojenize edildi. Bu homojenattan 5 ml alınarak santrifüj tüplerine aktarıldı ve sonra soğutmalı santrifüjde 10 dakika 3500 rpm’de 10°C ısı altında santrifüj yapıldı. Santrifüj işleminden sonra üst tabakada oluşan krema tabakası pastör pipeti yardımıyla aspire edildi. Yağsız supernatant (ayrılmış süt) anne sütü doğrudan test için kullanıldı.

2.2.2. Kimyasal Maddeler

Aflatoxin M₁ ELISA Ridascreen (Ridascreen[®], aflatoxin M₁ r-biofarm, Art. No.:R1101. Germany) ticari test kiti aşağıdaki maddeleri içermektedir:

- Aflatoxin M₁ standart solüsyonu (0, 5, 10, 20, 40 ve 80 ppt),
- Konjugat (peroksidaz konjugatlı aflatoxin M₁),
- Substrat (üre peroksidaz içerir),
- Kromojen (tetrametilbenzidin içerir),
- Stop reaktifi (1 M sülfürik asit içerir),
- Buffer 1 (numune dilüsyon buffer),
- Buffer 2 (konjugat dilüsyon buffer).

2.2.3. Cihazlar

- ELISA Okuyucusu: Thermo LabSystems Multiskan Spektrum, 1500.
- Vorteks: MS2 Minishaker, IKA.
- Soğutmalı santrifüj: Nüve NF 1000R.
- Mikropipetler: Biohit (20-200 µl, 100-1000 µl).
- Pastör pipetleri.

2.3. Test Prosedürü

Standartlar ve örnekler için yeterli sayıda U tabanlı AFM₁ antikorları ile kaplanmış mikropleytler kullanıldı. Bu mikropleytlere AFM₁ standart solüsyonlarından (0, 5, 10, 20, 40 ve 80 ppt) ve yağı alınan anne sütü örneklerinden 100'er µl pipetlendi. Oda ısısında ve karanlık bir ortamda 60 dakika (dk) inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklardaki sıvı dışarı boşaltıldı, sıvının tamamen kuyucuklardan boşaltıldığından emin olmak için pleyt baş aşağı şekilde emici kağıt üzerine birkaç defa vuruldu. Kuyucuklara 250 µl distile su ile dolduruldu ve tekrar boşaltıldı. Yıkama prosedürü aynı miktardaki distile su ile 1 kez daha tekrarlandı. Dilüe edilmiş

enzim konjugatından (enzim konjugat, buffer 2 ile 1:11 oranında dilüe edilir) 100 µl ilave edildi. Oda ısısında ve karanlık bir ortamda 60 dk inkübe edildi. İnkübasyondan sonra yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen ilave edildi. İyiçe karıştırılarak oda ısısında ve karanlıkta 30 dk inkübe edildi. Bağlı enzim konjugatı renksiz kromojeni mavi renge dönüştürdü. Bu işlemden sonra her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu ilave edildi. Stop solüsyonun ilavesi rengi maviden sarıya dönüştürdü. Kuyucuklar iyice çalkalanarak 450 nm absorbansta hava blenkine karşı 60 dk içinde okundu. Absorbanslar örneklerdeki AFM₁ konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

2.4. Değerlendirme

AFM₁ standartları ve anne sütü örneklerinin absorbans değerleri R-Biopharm GmbH (R-Biopharm GmbH Dolivostr. 10 D-64293 Darmstadt Germany) tarafından hazırlanan özel bilgisayar programı Ridasoft Win (Version 1.44 Copyright® R-Biopharm) ile değerlendirildi. Anne sütü örneklerindeki AFM₁ düzeyleri pg/ml (ppt) olarak belirlendi.

Dilüsyon faktörü (süt için 1) dikkate alınarak sonuçlar ppt (pg/ml) olarak hesaplandı. Ridascreen® AFM₁ ticari test kitinin en düşük belirleme limiti süt örnekleri için 5 ppt'dir. Bu nedenle, anne sütü örneklerindeki AM₁ düzeyi 5 ppt'nin altında kalan numuneler negatif olarak değerlendirildi. Geri kazanım kreması alınmış sütlerde %95 olarak Ridascreen® Aflatoksin M₁ ticari test yönteminde bildirilmektedir.

2.5. İstatistik

Anne sütlerinden elde edilen verilerin minimum, maksimum, ortalamaları ve yüzdeleri Zar (37) tarafından önerilen yöntemle göre hesaplandı.

3. BULGULAR

Bu çalışmada, Afyonkarahisar merkezi ile bağlı yerleşim bölgelerinde ikamet eden ve ilimiz sağlık kuruluşlarında doğum yapan kadınlardan temin edilen toplam 200 adet anne sütü örnekleri AFM₁ yönünden analiz edildi.

3.1. Yerleşim Yerlerine Göre Anne Sütlerinde AFM₁ Düzeyleri.

Kadınların ikamet ettikleri (köy, kasaba, ilçe ve merkez) bölgeler dikkate alınarak yapılan gruplandırmalara göre süt örneklerinde bulunan AFM₁ düzeyleri Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1 ve 3.2’de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Yerleşim yerlerine göre anne sütlerinde AFM₁ düzeyleri.

Yerleşim bölgesi	Örnek sayısı	Aflatoksin M ₁		Ortalama # Min-Max
		<5 pg/ml (ppt)*	>5 pg/ml (ppt)	
Köy	43	39 (%90,7)	4 (%9,3)	7.72 5,66-12,15
Kasaba	76	64 (%84,2)	12 (%15,8)	9.71 5,68-12,53
İlçe	13	13 (%100)	0 (%0)	-
Merkez	68	63 (%92,6)	5 (%7,4)	7.92 6,79-9,87
Toplam	200	179 (%89,5)	21 (%10,5)	8,45 5,66-12,53

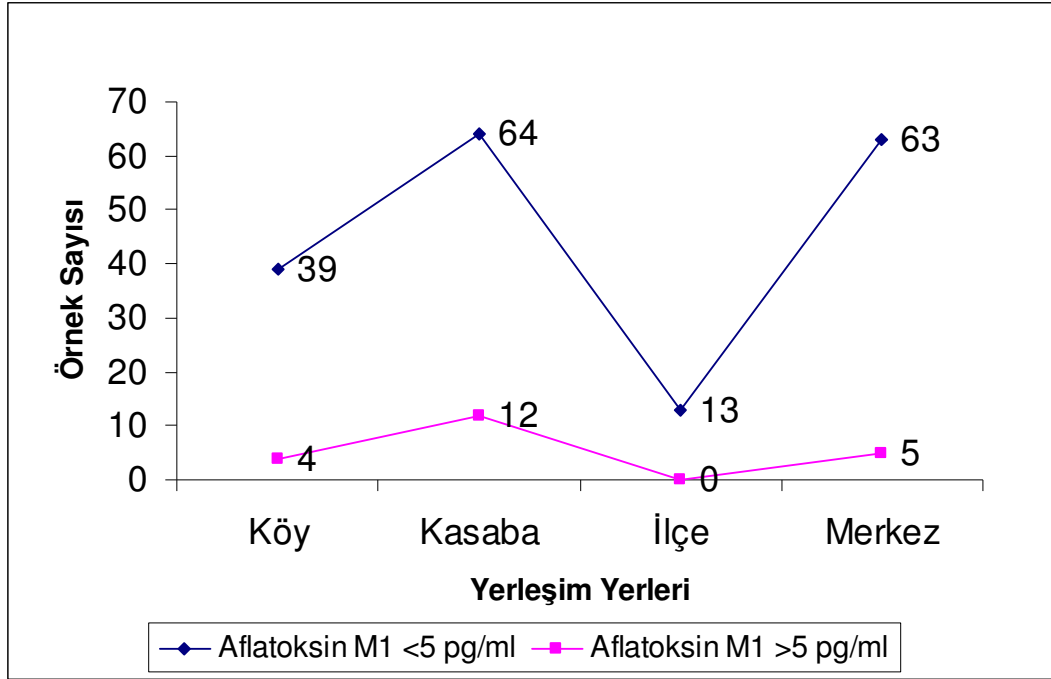
* <5 ppt AFM₁ için negatif.

Pozitif örnekler için

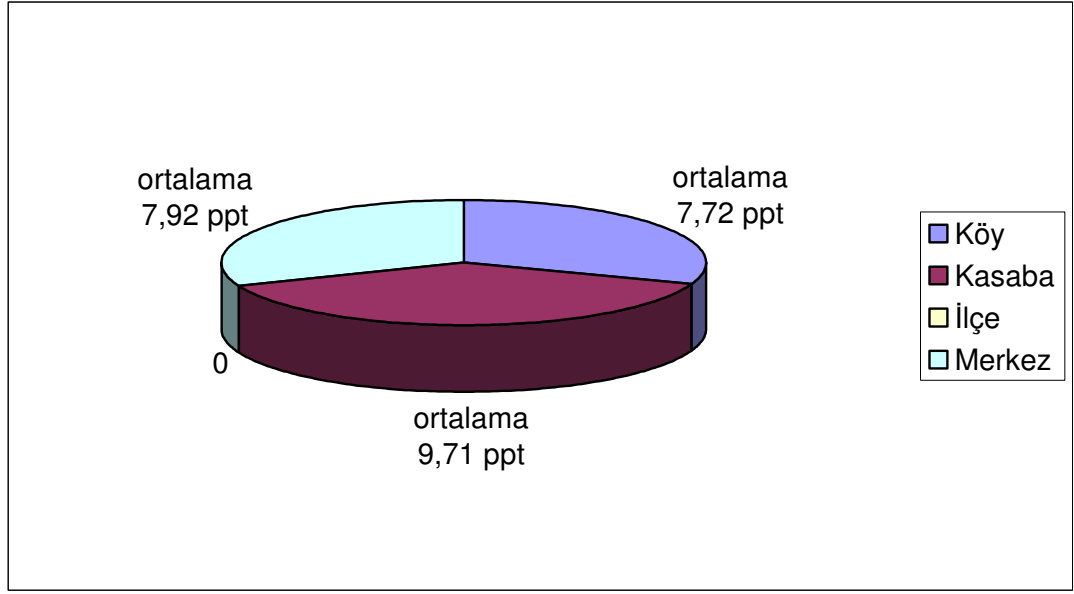
Toplam anne sütü örneklerinin 179 (%89,5) adedinde AFM₁ varlığı tespit edilemezken, 21 (%10,5) örnekte ise farklı düzeylerde (5,66-12,53) AFM₁ bulunmuştur.

Kadınların yerleşim yerlerine göre gruplandırarak yapılan incelemelerde

köylerdeki 43 anne sütü örneğinin 4'ünde (%9,3), kasabalardaki 76 anne sütü örneğinin 12'sinde (%15,8), merkezdeki 68 anne sütü örneğinin 5'inde (%7,4) farklı düzeylerde AFM₁ tespit edilirken (P>0.05), ilçelerden sağlanan 13 adet anne sütü örneğinin ise hiç birisinde tespit edilememiştir.



Şekil 3.1. Yerleşim yerlerine göre anne sütlerinde AFM₁ düzeyleri



Şekil 3.2. Yerleşim yerlerine göre anne sütlerinde pozitif AFM₁ düzeyleri

3.2. Eğitim Durumuna Göre Anne Sütlerinde AFM₁ Düzeyleri

Kadınların eğitim durumları (okur yazar değil, ilk öğretim, lise, yüksek okul) dikkate alınarak yapılan gruplandırmada ise süt örneklerinde bulunan AFM₁ düzeyleri Çizelge 3.2 ve Şekil 3.3-3.4'te verilmiştir.

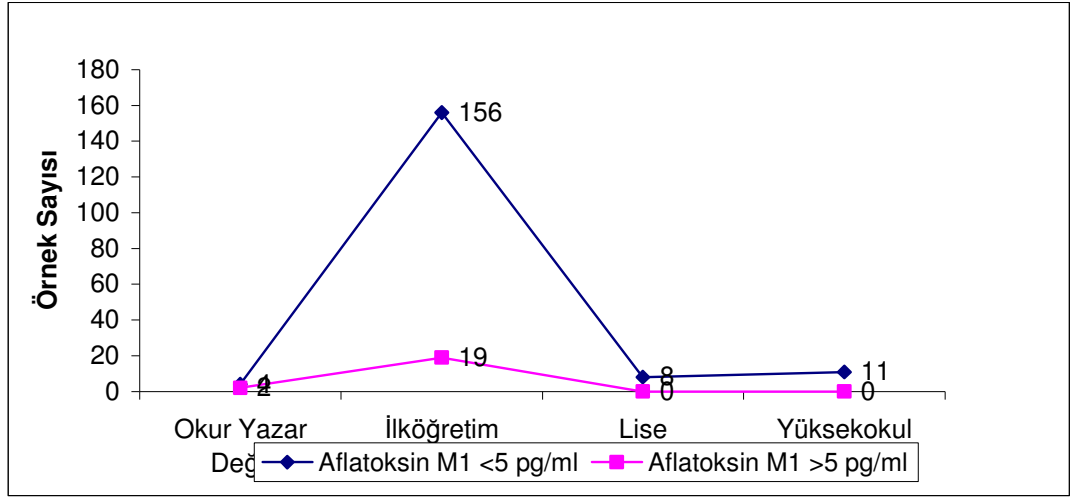
Çizelge 3.2. Eğitim durumuna göre anne sütlerinde AFM₁ düzeyleri.

Eğitim Durumu	Örnek sayısı	Aflatoksin M ₁		Ortalama # Min-Max
		<5 pg/ml (ppt)*	>5 pg/ml (ppt)	
Okur yazar değil	6	4 (%66,7)	2 (%33,3)	6.18 5,66-6.71
İlköğretim	175	156 (%89,1)	19 (%10,9)	8.92 5,68-12,53
Lise	8	8 (%100)	0 (%0)	-
Yüksek okul	11	11 (%100)	0 (%0)	-
Toplam	200	179 (%89,5)	21 (10,5)	8,45 5,66-12,53

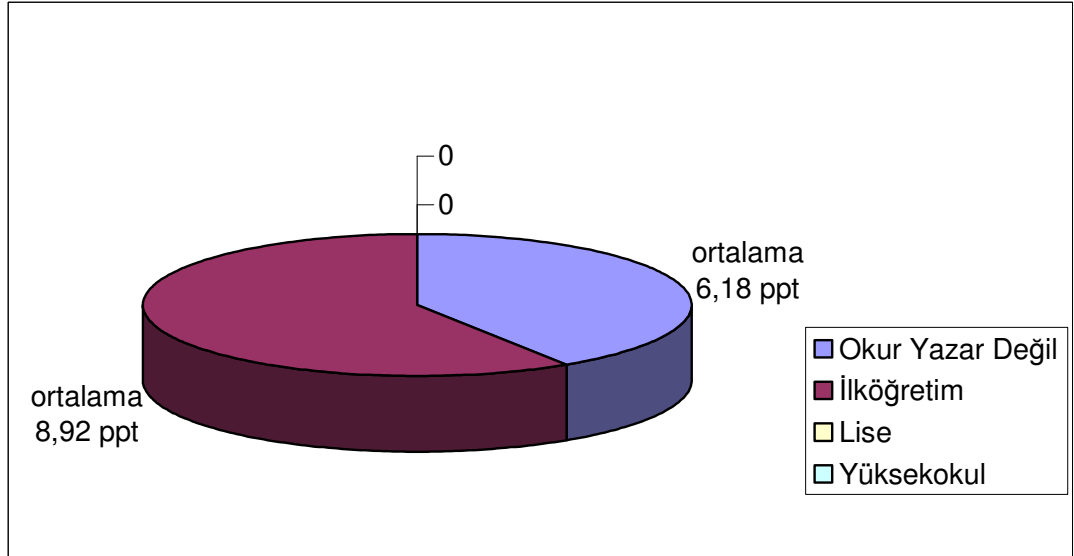
* <5 ppt AFM₁ için negatif.

Pozitif örnekler için

Kadınların eğitim durumlarına göre gruplandırılarak yapılan incelemelerde okur yazar olmayan 6 anneye ait süt örneğinin 2'sinde (%33,3), ilköğretim düzeyinde eğitim alan 175 anneye ait süt örneğinin 19'unda (%10,9) farklı düzeylerde AFM₁ tespit edilirken (P>0.05), lise düzeyinde eğitim alan 8 ve yüksek okul düzeyinde eğitim alan 11 anneye ait süt örneklerinin ise hiç birisinde tespit edilememiştir.



Şekil 3.3 Eğitim durumuna göre anne sütlerinde AFM₁ düzeyleri.



Şekil 3.4. Eğitim durumuna göre anne sütlerinde pozitif AFM₁ düzeyleri.

4. TARTIŞMA

Bebekler için anne sütünün ideal bir gıda olduğu bildirilmekte ve normal büyüme ve gelişme için anne sütü ile beslenmenin önemi gittikçe artmaktadır (38). Anne sütü besleyici ve çeşitli enfeksiyonlardan korunmada gerekli olan pasif immunitiyi sağlama özelliği dışında annenin gıdasıyla maruz kaldığı çok geniş kontaminantları da iz miktarda içerebilir (39). Dünyanın az gelişmiş ve gelişmekte olan bazı bölgelerinde doğal meydana gelen karsinojenik ve yüksek derecede zehirleyici özelliğe sahip aflatoksinler anne sütlerinde de gözlenebilmektedir (13, 23, 31, 33). Çocuklar düşük vücut ağırlıkları, yüksek metabolik oranı, detoksifikasyon mekanizmasının yeterince gelişmemiş olması, bazı doku ve organların gelişimini tamamlamamasından dolayı mikotoksinlerin etkilerine yetişkinlerden daha duyarlıdırlar (40).

Gıdalardaki aflatoksin düzeylerinin kontrolü ve eğitim altyapısına yeterince önem verilmezse, besinlerin aflatoksinlerle kirlenmesi, sadece düşük gelirli kırsal bölgede yaşayan insanlar için bir problem olarak değil, zengin varlıklı bölgelerde yaşarlarda da ciddi sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (16). Yapılan bu çalışmada da annelerin yerleşim yerlerine ve eğitim durumlarına göre anne sütlerindeki AFM₁ oranları arasında bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$).

İnsanların aflatoksinlere maruz kaldıkları ya gıda analizi ya da biyolojik sıvılardaki aflatoksin düzeylerinin izlenmesiyle belirlenebilir. Biyolojik sıvılardaki (idrar, anne sütü, göbek kordon kanı vb.) aflatoksin düzeylerinin izlenmesi gerçek maruziyetin tereddütsüz ve güvenilir bir indikatörüdür. Biyolojik bir sıvı olarak anne sütünün avantajı, emzirme döneminde kolayca elde edilmesi ve aflatoksinlere bebeklerin maruz kalmalarının değerlendirilmesi için çok önemli ip ucu vermesidir (13).

Aflatoksin analizleri için TLC, HPLC ve ELISA gibi farklı metotlar kullanılmaktadır. Süt ve süt ürünlerinde AFM₁ belirlenmesi için çeşitli teknikler olmasına rağmen, ELISA yöntemi ucuz, uygulaması kolay, duyarlı ve hızlı

olmasından dolayı en faydalı yöntem olarak değerlendirilmektedir (6, 9, 41). Süt içinde pikogram düzeyinde bulunan AFM₁'i ELISA kullanarak hassas bir şekilde ölçmek mümkündür (13). Test AFB₁ ile kros reaksiyon (%12,4 oranında) gösterebilir ancak AFM₁ analizi için bu durum önemli değildir. Çünkü AFB₁ süt ve süt ürünlerinde genellikle bulunmaz. Süt örneklerinde ELISA metodu ile AFM₁'i en düşük belirleme limiti 5 ppt'dir (41). Kim ve ark. (10), ELISA sonuçlarının HPLC bulguları ile benzerlik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Anne sütündeki AFM₁ varlığı, annelerin diyetleriyle AFB₁'e maruz kaldıklarını ve benzer şekilde süt emen bebeklerin de diyetleri aracılığıyla aflatoksine maruz kalabilecekleri bazı araştırmacılar tarafından farklı ülkelerde gösterilmiştir (13, 14, 16, 30-35, 42). Ülkemizde bu konuyla ilgili herhangi bir veriye rastlanılmamıştır. Afyonkarahisar bölgesinde ise anne sütleri kullanılarak AFM₁'e bebeklerin maruz kalıp kalmadıkları bu çalışmayla belirlenmiştir.

Coulter ve ark. (14), Sudanlı annelerden aldıkları 99 süt örneğinin 37'sinde (%37,3) AFM₁ ve M₂ bulunduğunu rapor etmişlerdir. Süt örneklerinin 13 adetinde AFM₁ tek başına ortalama 19 pg/ml, 11 tanesinde AFM₂ ortalama 12,2 pg/ml ve 13 adetinde ise her iki aflatoksin birlikte belirlemişlerdir. Wild ve ark. (30), Zimbabwe'nin kırsal bölgesindeki köylerde yaşayan kadınlardan topladığı 54 örneğin 6'sını (%11) AFM₁ yönünden pozitif, Fransa'daki kadınlardan elde edilen 42 süt örneğinin ise tamamının negatif olduğunu rapor etmişlerdir. El-Nezami ve ark. (13), Avustralya'nın Viktoriya eyaletindeki hastanelerden sağlanan 73 adet anne sütü örneğin 11'inde (%15) ortalama 71 pg/ml (28-1031 pg/ml), ve Tayland'daki 11 örneğin 5'inde (%45) ise ortalama 664 pg/ml (39-1736 pg/ml) AFM₁ tespit etmişlerdir. Navas ve ark. (31), Sao Paulo, Brezilya'da 50 adet anne sütü örneklerinin sadece birinde 24 pg/ml (%2) AFM₁ ölçmüşlerdir.

Birleşik Arap Emirliği'nin Abu Dabi şehrinde Saad ve ark. (16), tarafından analiz edilen 445 anne sütü örneklerinin %99,5'inde AFM₁ varlığını rapor etmişlerdir. Yine Abdulrazzaq ve ark. (33), Birleşik Arap Emirliği'nde inceledikleri

140 adet anne sütü örneklerin pozitif olan 129'unda (%92) ortalama 560 pg/ml (123,5-940 pg/ml) düzeyinde AFM₁ bulduklarını bildirmektedirler. Benzer Şekilde Sierra Leone'nın güney bölgesinde emziren annelerden alınan 113 süt örneğinde %88 oranında aflatoksin varlığı Jonsyn ve ark. (32), tarafından rapor edilmiştir.

Zarba ve ark. (34), Gambia'da analiz ettikleri 5 adet anne sütü örneklerinin %100'ünün AFM₁ açısından pozitif olduğunu rapor etmişlerdir. El-Sayed ve ark. (42), Mısır'da yaptıkları araŐtırmada emziren kadınların göğüs sütlerinde %20 düzeyinde (ortalama 2,72 ppb) AFM₁ saptamıŐlardır. Yine Polychronaki ve ark. (35), Mısır'lı 388 anneden sağladıkları anne sütü örneklerinin 138'inde (%35,5), ortalama 13,5 pg/ml (10,3-21,4 pg/ml) düzeyinde AFM₁ tespit etmişlerdir.

Stlerdeki AFM₁ düzeyleri coğrafik bölge, ülke, mevsim ve beslenme Őekillerine göre değişiklikler gösterebilmektedir. Yapılan bu çalışmada diğer ülkelerdeki araŐtırmalarla karŐılaŐtırıldıđında anne sütlerinin mikotoksinlerle kirlenmesi yönünden benzerlik göstermektedir.

Anne sütlerinde belirlenen aflatoksin varlığı, kadınların gerek yaŐadıkları bölgelerin farklı olması gerekse almıŐ oldukları eğitim düzeylerinin farklı olmasından etkilenmemiŐtir. Köylerde ikamet eden annelerden alınan süt örneklerinin %9,3'nde ortalama 7,72 pg/ml, kasabada ikamet edenlerin %15,8'inde ortalama 9,17 pg/ml, merkezde yaşayan annelerden alınan süt örneklerinin ise %7,4'nde ortalama 7,92 pg/ml düzeylerinde AFM₁ llmŐtr. İlçede ikamet eden kadıllardan alınan anne sütü örnek sayısının az olması nedeniyle AFM₁ varlığı yönünden pozitifliğe rastlanılmamıştır. Eğitim durumları yönünden ise okur yazar olamayan kadınlardan sağlanan süt örnek sayısı az olmakla birlikte %33,3'nde ortalama 6,18 pg/ml, ilköğretim düzeyinde eğitim gören kadınlardan sağlanan süt örneklerinin %10,9'nde ortalama 8,92 pg/ml miktarlarında AFM₁ llmŐtr. Lise ve yüksek okul düzeyinde eğitim gören kadınlarda ise AFM₁ belirlenememiŐtir. Yerleşim bölgeleri eğitim düzeyleri dikkate alınmaksızın toplam 200 adet anne sütü örneklerinin 179'u (%89,5) negatif olarak belirlenirken, 21 (%10,5) rneklerde ise ortalama 8.45 pg/ml düzeyinde AFM₁ olduğu tespit edilmiştir.

Geçmiş yıllarda yapılan bazı çalışmalar, anne sütlerinde farklı yoğunluklarda ve yüzdelerde AFM₁ bulunduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada analiz edilen anne sütü örneklerinde belirlenen AFM₁ yüzdesi Navas ve ark. (31), tarafından bildirilen sonuçlardan yüksek bulunurken; Coulter ve ark. (14), Wild ve ark. (30), El-Nezami ve ark. (13), Saad ve ark. (16), Abdulrazzaq ve ark. (33), Jonsyn ve ark. (32), Zarba ve ark. (34), El-Sayed ve ark. (42) ve Polychronaki ve ark. (35) tarafından bildirilen sonuçlardan oldukça düşük düzeylerde olduğu gözlenmektedir. Afyonkarahisar'daki sonuçların düşük olması hem coğrafi farklılıklardan hem de beslenme alışkanlıklarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Çünkü şehrimizde yer fıstığı ve benzeri yağlı tohumlu gıdalarla beslenme alışkanlığı oldukça nadirdir.

5. SONUÇ

Sonuç olarak, çocukların özellikle anne sütü aracılığıyla aflatoksinlere maruz kalmaları söz konusu olduğundan dolayı, annelerin beslenme alışkanlıklarını mantar üremesine engel olacak şekilde düzenlemesi, başta anneler olmak üzere halkın bu konuda eğitilmesi ve gıdalarda aflatoksin kirliliği olup olmadığının zaman zaman kontrol edilmesinin gerekli olduğu kanısına varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

1. **Van Egmond H.P.** (1989): *Aflatoxin M₁: occurrence, toxicity, regulation*. 11-55. Mycotoxins in Dairy Products. In H.P. Van Egmond (Ed.), Elsevier Applied Science, New York.
2. **Kaya S.** (2002): *Mikotoksinler*. 544-568. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. İkinci Baskı. Ed.: S Kaya, İ Pirinçci, A Bilgili. Medisan Yayınevi. Ankara.
3. **Aycicek H., Aksoy A., Saygi S.** (2005): Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey. *Food Control*, 16(3): 263–266.
4. **Betina V.** (1989): *Aflatoxins, sterigmatocystins and versicolorins*. 114-150. Mycotoxins: Chemical, Biological and Environmental Aspects. New York.
5. **D’Mello J.P.F., Macdonald A.M.C.** (1997): Mycotoxins. *Anim Feed Sci Technol*, 69(1-3): 155-166.
6. **Deshpande S.S.** (2002): Fungal Toxins. Handbook of Food Toxicology. New York, NY, USA: Marcel Dekker Incorporated.
7. **Yarsan E., Özdemir M.** (1997): Aflatoksinlerin insan ve hayvan sağlığı yönünden önemi ve aflatoksinlerin yıkımlanmasına yönelik uygulamalar. *Türk-Koop Ekin Derg*, 1(1): 41-49.
8. **Peraica M., Radić B., Lucić A., Pavlović M.** (1999): Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull World Health Organ*, 77(9): 754-766.
9. **FAO/WHO** (2002): Aflatoksin M₁. Fifty-sixth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Evaluation of Certain Food Additives

and Contaminants. *WHO Technical Report Series*, 906: 8-16.

10. **Kim E.E., Shon D.H., Ryu D., Park J.W., Hwang H.J., Kim Y.B.** (2000): Occurrence of aflatoxin M₁ in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. *Food Addit Contam*, 17(1): 59-64.
11. **Creppy E.E.** (2002): Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Lett.*, 127(1-3): 19-28.
12. **FAO/WHO** (1999): Forty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee of Food Additives: Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. *WHO Technical Report Series*, 884: 69-77.
13. **El-Nezami H.S., Nicoletti G., Neal G.E., Donohue D.C., Ahokas J.T.** (1995): Aflatoksin M₁ in human breast milk samples from Victoria, Australia and Thailand. *Food Chem Toxicol.*, 33(3): 173-179.
14. **Coulter J.B., Lamplugh S.M., Suliman G.I., Omer M.I., Hendrickse R.G.** (1984): Aflatoxins in human breast milk. *Ann Trop Paediatr.*, 4(2): 61-66.
15. **Lamplugh S.M., Hendrickse R.g., Apegyei F., Mwanmut D.D.** (1988): Aflatoxins in breast milk, neonatal cord blood and serum of pregnant women. *Br Med J.*, 296(6627): 968.
16. **Saad A.M., Abdelgadir A.M., Moss M.O.** (1995): Exposure of infants to aflatoksin M₁ from mothers' breast milk in Abu Dhabi, UAE. *Food Addit Contam.*, 12(2): 255-261.
17. **Martins M.L., Martins H.M.** (2000): Aflatoxin M₁ in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal. *Food Addit Contam.*, 17(10): 871-874.

18. **Cullen J.M., Ruebner B.H., Hsieh L.S., Hyde D.M., Hsieh D.P.H.** (1987): Carcinogenicity of dietary aflatoxin M₁ in male Fischer rats composed to aflatoxin B₁. *Cancer Res*, 47(7): 1913–1917.
19. **Sibanda L., De Saeger S., Peteghem C.V.** (1999): Development of a portable field immunoassay for the detection of aflatoxin M₁ in milk. *Int J Food Microbiol*, 48(3): 203–209.
20. **Barbieri G., Bergamini C., Ori E., Pesca P.** (1994): Aflatoxin M₁ in Parmesan cheese: HPLC determination. *J Food Sci*, 59(6): 1313–1331.
21. **Veldman A.** (1992): Effect of sorbentia on carry-over of aflatoxin from cow feed to milk. *Milchwissenschaft*, 47(2): 777-780.
22. **Pittet A.** (1998): Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update review. *Rev Med Vet*, 149(6): 479-492.
23. **Kaya, S.** (1982): Süt yemi ve çiğ sütte Aflatoksin kalıntılarının kromotografik yöntem ile araştırılması. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 29(3-4): 443-457.
24. **Özdemir, M.** (2007): Determination of aflatoxin M₁ levels on goat milk consumed in Kilis Province. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* Basımda
25. **IARC (International Agency for Research on Cancer)** (1993): *Aflatoxins. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic aromatic amines and Mycotoxins.* IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, vol. 56, pp. 245-395.
26. **Özdemir M.** (2002): Serbest ve bağlı aflatoksin B₁ kalıntısı içeren piliç karaciğeri ile beslenen sığırcılarda serbest ve bağlı kalıntı durumunun araştırılması. *Turk J Vet Anim Sci.* 26: 659-665.

27. **Codex Alimentarius Commissions** (2001): *Comments submitted on the draft maximum level for Aflatoxin M₁ in milk*. Codex Committee on Food Additives and Cotaminants 33rd Sessions, Hauge, The Netherlands.
28. **Stoloff L., Van Egmond H.P., Parks D.L.** (1991): Rationales for the establishment of limits and regulations for mycotoxins. *Food Addit Contam*, 8(2): 222–231.
29. **Türk Gıda Kodeksi Tebliğ** (2002): Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (Tebliğ No:2002/63). *Resmi Gazete*, 23.09.2002, Sayı: 24885.
30. **Wild C.P., Pionneau F.A., Montesano R., Mutiro C.F., Chetsanga C.J.** (1987): Aflatoxin detected in human breast milk by immunoassay. *Int J Cancer*, 40(3): 328-333.
31. **Navas S.A., Sabino M., Rodriguez-Amaya D.B.** (2005): Aflatoxin M₁ and ochratoxin A in a human milk bank in the city of São Paulo, Brazil. *Food Addit Contam*, 22(5): 457–462.
32. **Jonsyn F.E., Maxwell S.M., Hendricke R.G.** (1995): Ochratoxin A and aflatoxins in breast-milk samples from Sierra Leone. *Mycopathologia*, 131(2): 121-126.
33. **Abdulrazzaq Y.M., Osman N., Yousif, Z.M., Al-Falahi S.** (2003): Aflatoksin in breast-milk of UAE women. *Ann Trop Paediatr*, 23(3): 173-179.
34. **Zarba A., Wild C.P., Hall A.J., Montesano R., Hudson G.J., Groopman J.D.** (1992): Aflatoxin M₁ in human breast milk from The Gambia, West Africa, quantified by combined monoclonal antibody immunoaffinity chromatography and HPLC. *Carcinogenesis*, 13(5): 891–894.

- 35. Polychronaki N., Turner P.C., Mykkänen H., Gong Y., Amra H., Abdel-Wahhab M., El-Nezami H.** (2006): Determinants of aflatoxin M₁ in breast milk in a selected group of Egyptian mothers. *Food Addit Contam*, 23(7): 700–708.
- 36. Anon** (1999): Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M₁ Art. no. R 1101. R-Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany.
- 37. Zar J.H.** (1984): Biostatistical Analysis. Second Edition. Prentice-Hall International (UK) Limited. London.
- 38. WHO** (2003): Global strategy for infant and young child feeding. Geneva: WHO.
- 39. Jensen A.A., Slorach S.A.** (1991): Chemical contaminants into human milk. Florida, USA: CRC Press.
- 40. Galvano F., Galofaro V., Galvano G.** (1996): Occurrence and stability of aflatoxin M₁ in milk and milk products: a worldwide review. *J Food Prot.*, 59(10): 1079–1090.
- 41. Kaniou-Grigoriadou I., Eleftheriadou A., Mouratidou T., Katikou P.** (2005): Determination of aflatoxin M₁ in ewe's milk samples and the produced curd and Feta cheese. *Food Control*, 16(3): 257-261.
- 42. El-Sayed A.M.A.A., Neamat-Allah A.A., Soher E.A.** (2000): Situation of mycotoxins in milk, dairy products and human milk in Egypt. *Mycotoxin Research*, 16(2): 91-100.

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı: Nazmiye KUYUCUOĞLU
Doğum Yeri ve Tarihi: Karaman/Ermenek, 15.09.1975
Uyruğu: T.C.
Medeni Durumu: Evli ve bir kızı var

II. Eğitimi

Lisans: Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Yüksek Okulu, 1999
Lise: Konya/Seydişehir Lisesi, 1993
İlköğretim: Konya/Seydişehir, 1990

III. Görevler

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl
Hemşire	Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastahanesi	2000
Öğr. Gör.	Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu	2004