



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association
e-ISSN: 2667-8381, 12 (2): 105-117, 2021
DOI: 10.38137/vftd.966325

YEM VE GIDALARLA HAYATIMIZA GİREN AFLATOKSİNLERİ ÖNLEME YÖNTEMLERİ

Fadime TONBAK^{1a}, Pelin DEMİR^{2b}

¹Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye
²Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin / Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 23119, Elazığ, Turkey

ORCID^a: 0000-0001-7308-512X, ORCID^b: 0000-0002-0824-1672

*Sorumlu Yazar: Pelin DEMİR
E-Posta: p.demir@firat.edu.tr

Geliş Tarihi: 08.07.2021
Kabul Tarihi: 30.08.2021

ÖZET

Aflatoksinler, yemlerde ve gıdalarda bulunan mantar metabolitleridir. Mikotoksinler arasında, aflatoksin grubu insan ve hayvan sağlığı üzerine ciddi etkileri nedeniyle çok dikkat çekmiştir. Geviş getiren hayvanlar Aflatoksin B1 (AFB1) içeren yemleri yediğinde, bu toksin metabolize olur ve Aflatoksin M1 (AFM1) olarak süte geçer. Son yıllarda, toksin maruziyeti ile kanser hücresi proliferasyonu ve invazyonu arasındaki korelasyonda AFB1 ve AFM1'den sıkça söz edilmektedir. Son zamanlarda kanser hücreleri üzerindeki aflatoksin etkilerini değerlendirmeyi amaçlayan bazı epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır. Bu derlemede, AFB1 ve AFM1'in aktivasyon durumları ve literatürde kanser gelişimiyle ilgili korelasyon hakkında rapor edilmiş olan bazı veriler özetlenmektedir.

Anahtar Kelimeler: AFB1, AFM1, Aflatoxin, Kanser, Süt.

AFLATOXIN ENTERING OUR LIVES WITH FEED AND FOOD AND PREVENTION METHODS

ABSTRACT

Aflatoxins are fungal metabolites found in feeds and foods. Among mycotoxins, the aflatoxin group has received much attention due to its serious effects on human and animal health. When ruminants eat feed containing Aflatoxin B1 (AFB1), this toxin is metabolized and passed into milk as Aflatoxin M1 (AFM1). In recent years, AFB1 and AFM1 have been frequently mentioned in the correlation between toxin exposure and cancer cell proliferation and invasion. Recently, some epidemiological studies have been conducted to evaluate the effects of aflatoxin on cancer cells. This review summarizes of some data reported in the literature on the activation states of AFB1 and AFM1 and their correlation with cancer development.

Keywords: AFB1, AFM1, Aflatoxin, Cancer, Milk.

GİRİŞ

Aflatoksinler (AF) dünyanın her tarafında yaygın olan, sıcak ve nemli koşullarda gelişen *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus paraticus* gibi bazı mantar (küf) türleri tarafından sentezlenen en zararlı mikotoksinlerdir (Li ve ark., 2020). Bu toksinler kimyasal yapılarına, ürettikleri mantar çeşidine, etki ettikleri organ, doku veya sisteme göre çeşitli sınıflara ayrılırlar. Hayvanlar ve insanlar tarafından tüketildikleri zaman, bazı faktörlere bağlı olarak

latent, akut ve kronik karakterde zehirlenmelere sebep olurlar (Kaya, 1989). Aflatoksinler tarih boyunca büyük ekonomik kayıplara, insan ve hayvan ölümlerine neden olmasının yanısıra modern tarım endüstrisinin sürdürülebilir ve kaliteli gelişimini tehdit eden, son derece toksik metabolitlerdir (Danesh ve ark., 2018; Assaf ve ark., 2019a). Yemlerde ve gıdalarda aflatoksin grubu bilinen 20' den fazla metabolit tespit edilmiştir (Mahmood Fashandi ve ark., 2018).

Dünya genelinde 4,5 milyardan fazla insanın farklı AF düzeyleri ile kontamine gıda maddelerine maruz kalma riski altında olduğu bildirilmiştir (Williams ve ark., 2018). Üretimin herhangi bir aşamasında gıda ve yem ürünleri kontamine olabilir. Özellikle, bitkilerin hasat edilmesi esnasında, taşıma ve depolama sırasında, gıdanın hazırlanması ve teknolojik işlemler sırasında, küflerin gelişmesine elverişli sıcak ve nemli ortamlar oluştuğunda insan ve hayvan sağlığına zararlı mikotoksinler şekillenebilmektedir (Sweeney ve Dobson, 1998; Hussein ve Brasel, 2001; Villers, 2014).

Aflatoksinlerin ultraviyole (UV) ışık altında mavi floresans (Blue) veren bileşenlerine AFB1 ve AFB2, sarı-yeşil floresans (Green) verenlerine ise Aflatoksin G1 (AFG1) ve Aflatoksin G2 (AFG2) ismi verilmiştir. Aflatoksin içeren yemleri tüketen hayvanların sütlerinde bu toksinlerin bir türevi salgılandığı belirlenmiş ve sütte bulunmasından ötürü buna “süt toksini” (milk toxin) anlamında Aflatoksin M (AFM) adı verilmiştir. Aflatoksin M1 (AFM1) ve Aflatoksin M2 (AFM2) türevleri, AFB1 ve AFB2'nin süt üreten hayvanlarda metabolik değişikliğe uğratılarak vücuttan atılan şekilleri olarak kabul edilir (Şanlı, 1995; Akdemir ve Altıntaş, 2004; Polat, 2013). Aflatoksin M2 aynı zamanda dihidro-aflatoksin M1 olup, bunların içinde en fazla toksik etkisi olan Aflatoksin B1 olarak kabul edilmektedir (Polat, 2013). Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC), insan kanserojenleri olarak AFB1 ve AFM1'i sırasıyla Grup 1 ve Grup 2B' ye ait sınıflandırmıştır (Marchese ve ark., 2018a).

SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE AFLATOKSİNLER

Aflatoksin B1, birçok gıda maddesinde yaygın olarak bulunan, genotoksitesisi ve kanserojenliği

nedeniyle halk sağlığı endişesi hala devam eden bir mantar metaboliti ürünüdür (Nugraha ve ark., 2018). Yerfıstığı, fındık, antepfıstığı gibi diğer yenilebilir kabuklu yemişlerde ve ürünlerinde, kuru meyvelerde, çeşitli baharatlarda ve farklı tahıl türlerinde küfler tarafından sentezlenebilir. Kontamine hayvan yemi ile alınan AFB1, hayvanın gastrointestinal sistemi tarafından sindirilerek, karaciğerinde AFM1 ve AFM2'ye dönüştürülür ve süte geçer. Süt ve süt ürünlerinde AFM1, AFB1'den daha az toksik olsa da, insanlar ve bazı hayvan türleri için oldukça zararlıdır (Kumar ve ark., 2017; Li ve ark., 2018). Bu nedenle sütte aflatoksin bulunması, küçük miktarlarda bile olsa, süt endüstrileri ve süt ürünleri tüketicileri için gerçek bir endişe kaynağı oluşturmaktadır (Assaf ve ark., 2019b).

Yapılan deneysel çalışmalarda AFB1 uygulamasından 12 saat sonra hayvanların sütlerinde AFM1'e rastlanılmış ve bu kalıntının yaklaşık 3 gün boyunca devam ettiği görülmüştür (Weidenbörner, 2001). İnek sütlerinde AFB1'in AFM1 olarak taşınmasının %0,3 ile %6,2 arasında değiştiği belirlenmiştir (Veldman ve ark., 1992). Kontamine süt içerisinde AFM1 parçalanmaz; ısıl işlemler, sterilizasyon veya pastörizasyon gibi farklı endüstriyel işlemlere karşı da oldukça dayanıklıdır (Motawee, 2013). AFM1, sadece çiğ sütte değil, aynı zamanda peynir, yoğurt, krema ve süt tozu dahil tüm türev ürünlerinde de zararlı boyutta olmaya devam etmektedir (Bovo ve ark., 2016). Yapılan çalışmada AFM1, sütle üretilen ürüne geçerken peynirde 3-7 katına, süt tozunda 7-8 katına kadar ulaşabilmektedir (Erol, 2007). Bu nedenle, AFM1'in sütte az miktarlarda olması dahi onu endişe verici bir konu haline getirmektedir (Ismail ve ark., 2015).

Atasever ve ark. (2011) marketlerden temin ettikleri 80 yoğurt örneği ve 80 ayran örneğinde AFM1 düzeyini ELISA metoduyla araştırdıkları

çalışmalarında, yoğurt örneklerinin %87,5'i ve ayran örneklerinin ise %90'ında belirlenebilir limitlerin üzerinde olduğunu (5 ng/kg) bulmuşlardır. Bu çalışmada araştırmacılar, AFM1 seviyesinin 16 (%20) yoğurt numunesinde ve 11 (%13,5) ayran numunesinde Türk Gıda Kodeksi (TGK) limitlerini aştığını tespit etmişlerdir.

Elazığ ilinde tüketime sunulan çiğ ve UHT sütlerde AFM1 düzeyini ortaya koymak amacıyla yapılan çalışmada, HPLC metoduyla analizi yapılan 50 adet çiğ süt numunesinin, 16 tanesinde AFM1 0,005-0,23 µg/kg (ppb) düzeyinde bulunmuştur. Sadece 1 örnekte AFM1'in 0,23 µg/kg (ppb) seviyesinde olduğu belirlenmiş ve bu numunenin TGK Yönetmeliğine göre kabul edilebilir AFM1 sınır değerinin üzerinde (> 0,05 µg/kg (ppb)) olduğu saptanmıştır. 50 adet sade UHT sütlerin 49 tanesinde ise AFM1 tespit edilmemiş ancak sadece bir tanesinde AFM1 düzeyi 0,018 µg/kg (ppb) olarak tespit edilmiştir (Kızıl ve ark., 2017).

Yapılan bir çalışmada 150 UHT süt örneğinde AFM1 düzeyinin incelenmiş, UHT süt örneklerinin %59'unun AFM1 içerdiği saptanmış ve %10,7'sinin AFM1 yönünden TGK ve Avrupa Birliği tarafından düzenlenen yasal limitleri aştığı belirtilmiştir (Atasever ve ark., 2010a).

Yine Özkaya ve ark. (2002), Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden topladıkları 360 adet çiğ süt örneğinin %44,3'ünün ile 49 adet beyaz peynir örneğinin %13,3'ünde AFM1 içerdiği ve miktarının TGK limitini aştığını tespit etmişlerdir.

Türkiye'de tüketilen bazı peynir çeşitleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise toplam 304 peynir örneği (85 beyaz peynir, 75 kaşar peynir, 62 civil peynir, 82 krem peynir) AFM1 yönünden ELISA metoduyla incelenmiştir. Beyaz peynir örneklerinin %82,4, kaşar peynir örneklerinin %80, civil peynir örneklerinin %19,4 ve krem peynir

örneklerinin ise %84,2'sinde AFM1'e rastlanılmıştır. Çalışmada, AFM1 yönünden yasal limitleri aşan numune oranı beyaz peynir, kaşar peynir ve krem peynir örneklerinde sırasıyla %27,1, %34,7, %17,1 olarak belirlenmiştir. TGK'ya göre civil peynir örneklerinde limiti aşan numuneye rastlanmamıştır (Atasever ve ark., 2010b).

Akdemir ve Altıntaş (Akdemir ve Altıntaş, 2004), Ankara Yöresi'nde üretim yapan 2 ayrı süt fabrikasında, çeşitli illerden getirilen 12 ayrı kaynaktan alınan, toplam 48 adet çiğ inek sütü örneğini AFM1 yönünden, immünoaffinite kolon temizleme ve floresans dedektörlü HPLC ile incelemişler. Sonuç olarak, örneklerin %70,83'ünün AFM1 içerdiği ve %33,3'ünün TGK'da bildirilen limit değerinin (0,05 ppb) üzerinde olduğu belirlenmiştir. Yörelere arasında AFM1 düzeyleri açısından belirgin farklılıklar olduğu da saptanmıştır. En yüksek AFM1 düzeyi Ankara yöresine ait süt örneklerinde tespit edilmiş (0,817 ppb). Burdur ve yöresinin en riskli yöre olduğu, Eskişehir yöresinin ise risk taşımadığı belirlenmiştir.

Van ilinde tüketime sunulan UHT sütlerde yapılan araştırmada, analize alınan tam yağlı UHT sterilize süt örneklerinin 9 tanesinin (%36), yarım yağlı UHT sterilize süt örneklerinin ise 7 tanesinin (%28) AFM1 seviyesi yönünden TGK'da süt için verilen limitlere (50 ng/l) uygun olmadığı ortaya konulmuştur (İşleyici ve ark., 2012).

Erkan ve ark. (2018), Elazığ ilinde satışa sunulan 100 adet tulum peynirinde ELISA yöntemi kullanarak AFM1 analizi yapılan tüm peynir örneklerinde (%100) AFM1 düzeyinin, TGK Bulaşanlar Yönetmeliği'nde bildirilen limit değer olan 50 µg/kg (0,05 ppb)'den yüksek bulunmuştur.

AFB1 kirliliği ve maksimum limiti aşma oranı ile AFM1 ortalamaları yönünden mevsimler arasında farklılıkların olabileceği vurgulanmaktadır.

Ülkemizde en yüksek riskin ilkbaharda görüldüğü ve bu mevsimde AFM1 miktarının sütte arttığı bildirilmiştir (Özkaya ve ark., 2002). Mevsimlerle, yem ve süt ürünlerindeki aflatoksinlerin bulaşıklığını ilişkilendirmek oldukça zor olup çeşitli modeller ve veri dizileri geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Bu amaçla Van der Fels-Klerx HJ ve ark. (2019) tarafından, iklim değişikliğinin mısırdaki AFB1 üretimi üzerindeki etkilerini ve inek sütündeki AFM1 kontaminasyonu üzerindeki sonuçlarını araştırmayı amaçlayan bir çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada, Doğu Avrupa' da yetiştirilen ve Hollanda' daki süt ineklerinin karma yemlerine katılmak amacıyla Hollanda' ya ithal edilen mısır üzerine odaklanılmıştır. Yapılan modelleme sonucu 2030 yılına kadar sütte, maksimum oranda bir artış olacağı tespit edilmiştir. Tüm bulaşma ve iklim modelleri kombinasyonlarından elde edilen sonuçlar ise, 2030 yılına kadar sütte AFM1'in 0,05 µg / kg ile AB sınırının üzerinde bulunmakta olduğunu göstermiştir. Yapılan modelleme çalışması ile diğer mikotoksinler ve gıda güvenliği tehlikeleri birlikte tahmin modellerinin de dahil edilebileceği ifade edilirken; senaryo analiziyle bu şekilde bütünleşmiş bir yaklaşım, politikacıların ve risk yöneticilerinin, zincirin başlangıcındaki değişikliklerin nihai ürün üzerindeki etkilerini araştırmasına imkan sunduğu bildirilmiştir.

AFM1 dahil aflatoksinlerin toksisitesi ve konakçı üzerindeki etkisi cinsiyet, yaş, tür ve beslenme davranışına bağlıdır (Williams ve ark., 2018). Beslenme özellikleri nedeniyle bebekler, yetkili otoriteler tarafından doğum sonrası 6 ay boyunca anne sütüyle beslenmesi teşvik edilmektedir. Radonić ve ark. (2016), tarafından, insan sütü örneklerinde AFM1 içeriğini belirlemek ve bebeklerin aflatoksinlerin gıda kontaminasyonuna maruz kalma riskini

değerlendirmek için bir çalışmada, alınan numunelerde insan sütünde (kolostrum ve anne sütü) AFM1 kontaminasyonunda endişe verici seviyeleri tespit etmişler ve doğumdan 4-8 ay sonra toplanan anne sütü ve kolostrum örneklerinin %36,4'ünün AFM1 ile kontamine olduğunu tespit etmişlerdir (Mohammed ve ark., 2016).

Yem, süt ve süt ürünlerinde AF maksimum limit miktarları her ülkede farklı düzenlenmiştir. İran'da yürütülen bir çalışmada, popüler marketlerden elde edilen pastörize süt (116 örnek) ve UHT süt (109 örnek) içeren 225 ticari süt örneğinde AFM1 oluşumunu belirlemek için ELISA yönteminin kullanıldığı çalışmada, pastörize süt örneklerinin 83'ünde (%71,5) (ortalama 52,8 ng/l) ve UHT süt örneklerinin 68 tanesinde (%62,3) (ortalama 46,4 ng/l) olmak üzere toplam 151 örnekte (%67,1) saptanmıştır. Çalışmada AFM1, ABD/FDA ve İran standart limitleri göre, 2 pastörize (%1,7) ve 3 UHT süt örneğinde (%2,7) maksimum tolerans sınırının üzerinde olduğu görülmüştür. Ancak, Avrupa Komisyon (EC) limitlerine (50 ng/l) göre, bu rakam pastörize ve UHT süt için sırasıyla 31 (%26,7) ve 19 (%17,4) örnek olarak daha yüksek bulunmuştur (Fallah, 2010). Yine İran'ın Erdebil şehrinde toplanan çiğ süt örneklerinin %14,75'inde limiti (50 ng/l) aşan AFM1 düzeyleri tespit edilmiştir (Kamkar ve ark., 2011).

AFLATOKSİNLERLE İLGİLİ HASTALIKLAR

Dünya Sağlık Örgütü 2016 yılında, küresel hastalık yükünün ve ölümlerinin %20'sinden fazlasının değiştirilebilir çevresel faktörlere bağlı olduğunu bildirmiştir. AFB1 ve AFM1 maruziyetine bağlı, hem çevresel hem de genomik karakterize risk faktörlerini de bu grupta değerlendirmiştir (Joubert ve ark., 2020).

Yapılan bir çalışmada, bazı genlerin, proteinlerin ve miRNA'ların (mikroRNA) AFB1 ve AFM1 maruziyeti nedeniyle hasar belirteçleri olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Araştırmacılar, genlerin/proteinlerin/miRNA'ların ekspresyon değişikliklerinin AFB1 ve AFM1 maruziyetine bağlı hasar belirteçleri olarak kullanımı noktasında, kanser başlangıcı veya ilerleme indeksleri göz önüne alınarak yapılan çalışmaların çok ilginç olacağını vurgulamışlardır (Marchese ve ark., 2018b).

Yemlerdeki 15 ppb düzeyinde AF'e bir sefer dahi maruz kalınması dişi ratlarda 80, erkek ratlarda 70 hafta boyunca %100'e varan oranda karaciğer kanseri oluşturabildiği görülmüştür. Buna karşılık yemle birlikte alınan 1 ppb aflatoksinin bile karaciğer kanserine yol açabildiği belirtilmektedir. Ayrıca böbrek tümörlerine, kolonik musinöz adenokarsinom, sarkom ve fibrosarkom ile kötü huylu nörofibrosarkoma sebep olabileceği belirtilmektedir (Kaya, 1989). Bununla birlikte araştırmacılar aflatoksinlerin DNA üzerinde lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasara sebep olduğunu belirtmektedir (Verma, 2004).

Karaciğer kanserleri ve aflatoksinler:

Gelişmekte olan ülkelerde, AFB1'e yüksek maruziyet kronik toksisiteye neden olabilir ve genellikle Hepatoselüler Karsinom (HCC) insidansını arttırabilir. Küresel olarak AFB1 maruziyetine atfedilen HCC vakalarının %4,6-28,2 oranında yüksek bir hepatokarsinojen olarak ortaya çıktığı bulunmuştur (Kucukcakan ve Hayrulai-Musliu, 2015). Ayrıca, bireyler kronik hepatit B virüsü (HBV) ile AFB1'e birlikte maruz kalırlarsa, 30 kat daha artırarak kanser riski açısından ciddi bir hal almaktadır (Liu ve Wu, 2010). Aflatoksinin yüksek konsantrasyonları akut hepatite neden olurken, kronik maruziyet daha çok karaciğer kanserine neden olduğu bildirilmiştir (Rapisarda ve

ark., 2016). İnsan karaciğer tümörleri arasında AFB1 maruziyet ilişkisiyle kanserlerin tanılabilirliğini doğruladığı vurgulanmıştır (Fedele ve ark., 2017). Başka bir çalışmada, siroz ve HBV varlığında ve yokluğunda AFB1 maruziyeti ile HCC gelişimi arasındaki zaman aralıklarının önemi ortaya konmuş ve HBV hastalarında siroz ve HCC gelişme riskini doz-tepki şeklinde artabileceğini kanıtlamıştır (Chu ve ark., 2017).

Yapılan çalışmalarda aflatoksin oranı yüksek gıdalarla beslenme sonucu gelişen uzun süreli aflatoksin maruziyeti, insanlarda karaciğer kanser gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (Yu ve ark., 1997; Shi ve ark., 2016). Başka bir çalışmada hastalar üzerinde AFB1 ve AFM1 maruziyeti, kronik HBV hastaları, Hepatit C virüsünün (HCV) eşzamanlı varlığı, HCC riski ve idrar seviyeleri ile ilişkili olup olmadığı değerlendirilmiş, bu hastalarda artan AFM1 düzeyleri ve HBV varlığı olan hastalarda HCC riski 3,3 kat artmıştır (Sun ve ark., 1999).

Mısır' da yürütülen bir çalışmada, siroz ve HCC hastalarının idrar ve serumunda AFM1 düzeyleri değerlendirilmiştir. Siroz hastalarının serum ve idrarlarında, HCC hastalarının da idrarlarında daha yüksek AFM1 konsantrasyonu olduğu tespit edilmiştir (Mokhles ve ark., 2007). Yetişkinlerde yapılan bir çalışmada ise, aflatoksin maruziyetinin bir biyobelirleteri olan idrar AFM1 düzeyi ile gıda alımı arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplanan ve test edilen 444 adet idrar örneğinden 199'u AFM1 için pozitif bulunmuştur. Ancak, gıda gruplarının tüketimi ile idrardaki AFM1 düzeyi arasındaki ilişkinin zayıf olduğu bildirilmiştir (Sulaiman ve ark., 2018).

Kronik hepatitli 515 hastada primer karaciğer kanseri başlangıcı ile AFM1 maruziyeti arasındaki ilişkinin değerlendirilmesine odaklanan bir çalışma yapılmıştır. Karaciğer fonksiyon bozukluğu ile

ilişkili idrar miktarının AFM1 ile arttığı bildirilmiştir (Lu ve ark., 2010). Başka bir çalışmada, idrar AFM1 düzeyleri ve serum alfa-fetoprotein düzeyleri değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerde, idrar AFM1 düzeylerinin artmasıyla HCC geliştirme riskinin daha yüksek olduğunu göstermiştir (Saad-Hussein ve ark., 2013).

Akciğer kanserleri ve aflatoksinler: İşçilerin, tahıl tozları nedeniyle pulmoner AFB1'e maruz kaldıklarında akciğer kanseri gelişebildiği bildirilmiştir. Bu nedenle, pulmoner kanserojen ve AFB1 ile akciğer kanserleri arasındaki ilişkiye odaklanan bazı farklı epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır. Araştırmalar, AFB1 maruziyetinin akciğer tarafından bir DNA bağlayıcı metabolit üretimini uyararak insanların pulmoner AFB1'e duyarlılığını vurgulamıştır (Donnelly ve ark., 1996). Yapılan bir çalışmada AFB1 maruziyetinin, insan bronşiyal epitel hücrelerini ve tümör baskılayıcı proteinleri hedefleyerek tümör oluşumunu teşvik edebilen bir sisteme yüksek oranda yatkınlık olduğu bildirilmiştir (Van Vleet ve ark., 2006). Ayrıca, AFB1'in kanserojenik rol oynadığını ve inhalasyonla ilişkili insan akciğer karsinogenezinde kritik bir rol alabileceği gösterilmiştir (He ve ark., 2006).

Gastrointestinal kanserler ve aflatoksinler: Sindirim sistemi, maruz kalman kontamine gıdalara karşı ilk bariyerdir. AFB1 ve AFM1'in bağırsak kanserojen potansiyelinin olduğu bildirilmiş ve AFM1'in AFB1'e kıyasla daha yüksek sindirim sisteminde tutulması nedeniyle daha çok bağırsak kanserojenliğine sahip olabileceği düşünülmüştür (Zhang ve ark., 2015). Farklı mikotoksin kombinasyonlarının olası sinerjik etkilerini değerlendirmek için yürütülen bir çalışmada, AFM1 ve okratoksin A (OTA)'nın diğer toksinlerden daha sitotoksik olduğu görülmüştür

(Gao ve ark., 2016). Ayrıca farklı organlardan (kolon, rektum, meme, serviks ve karaciğer) AFB1-DNA ilişkisinin incelendiği bir çalışmada, normal dokular ve tümör dokuları analiz edilmiş ve tüm örnekler pozitif sonuç vermiştir (Harrison ve ark., 1993).

Diğer hastalıklarla aflatoksin ilişkisi: Domuz gribi virüsü (SIV) hem hayvanlar hem de insanlar için önemli bir patojendir. Sun ve ark. (2018) AFB1'e düşük seviyede maruz kalmanın SIV enfeksiyonuna neden olduğu bildirilmiştir.

Çocuklarda idrar AFM1 seviyelerini belirlemek ve aflatoksin albümin (AF-alb) seviyelerini değerlendirmek için yürütülen çalışmada, çocuklardan farklı zamanda idrar ve kan örnekleri alınmıştır. Çalışma kapsamında bazı yerlerde hem AFM1 hem de AF-alb seviyeleri aynı kalırken bazı yerlerdeki örneklerde de hasattan altı ay sonra, başlangıç seviyesine göre bu düzeyler daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte araştırmacılar, bir sonraki ziyarette AFM1 seviyelerini idrarda düşük bulurken, sonraki ziyarette AF-alb seviyelerini yüksek bulmuşlardır. Burada AFM1'in kısa süreli maruz kalmayı ölçtüğünü, AF-alb ise uzun süreli maruz kalmayı yansıttığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak üriner AFM1'in, çocuklarda AFB1 maruziyeti için iyi bir biyobelirteç olduğunu vurgulayarak, gıda kaynaklı toksine maruz kaldığında coğrafi ve zamansal varyasyonları yansıtacağını ifade etmişlerdir (Chen ve ark., 2018).

Karaciğer dışında bağışıklık sisteminin baskılanması, süt veriminin düşmesi ve vücut dokularına düşük oksijen temini gibi, diğer zarar verici etkiler de AFB1 ve AFM1'le ilişkilendirilmiştir (Ajani ve ark., 2014). AFB1'e uzun süre maruz kalmanın Tip 1 Diyabetes Mellitus üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada, AFB1 uygulamasından sonra majör üriner protein 1

(MUP1) seviyelerinin fare karaciğerlerinde daha düşük olduğunu vurgulamıştır. Bu nedenle, majör MUP1'in yüksek insülin duyarlılığının bir işareti olarak kullanıldığı düşünüldüğünde, araştırmada, AFB1 maruziyetinin farelerde kan şekeri seviyelerini arttırdığı ve karaciğer kanseri gelişme olasılığını yükselttiği gösterilmiştir (Tsai ve ark., 2017).

AFLATOKSİN ANALİZ YÖNTEMLERİ

Gıda güvenliğini ve tüketicilerin sağlığını güvence altına almak için çeşitli gıdalarda aflatoksin varlığının izlenmesi ve bunun için analiz edilmesi gerekmektedir. Doğal kirleticiler olan aflatoksinler, birçok tarım ürünü (mısır, pirinç, yer fıstığı vb.), gıdalarda (yemlik bitkisel yağ, süt, et vb.) ve yemlerde bulunur ve ekim, hasat, taşıma, depolama gibi çeşitli aşamalarda ortaya çıkabilir (Zhao ve ark., 2018). Bu aşamalarda hassas analiz yöntemlerinin kullanılması ve aflatoksin kontaminasyonunun izlenmesi, riskleri azaltmak için kontamine gıdaların tespit edilmesinde anahtar bir araçtır.

Aflatoksin tespiti için birçok analitik yöntemler geliştirilmiştir. ELISA, Floresan detektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Sheijooni-Fumani ve ark., 2011; Kong ve ark., 2013) ve ultra performans sıvı kromatografisi - tandem kütle spektrometresi (UPLC-MS/MS) gibi enstrümantal yöntemler (Scholl ve Groopman, 2008; Deng ve ark., 2017), aflatoksin tespiti için kullanılan yöntemlerdir. Ancak, bu tür analizler laboratuvarlardaki özel ekipmanlarla yapılabilmesi ve ekstraksiyonunun zaman alıcı olması gibi konularla sınırlı kalmaktadır. Bunun yerine sahada da kullanılabilecek hızlı taramalar üzerinde durulmaktadır (Hu ve ark., 2017).

Hızlı tarama testlerinden şerit yöntemi, kullanıcılar için basit ve sahada kullanışlı olduğu

bildirilmiştir. Bu strip testinin hassasiyetini arttırmak amaçlı farklı tasarımlar düşünülmüştür. Zamanla çözünen floresans immünokromatografi deneyi (TRFICA), geleneksel altın nanoparçacık bazlı şerit denemesine (GNP) kıyasla tespit duyarlılığının birkaç katını arttırdığı bildirilen önemli yeni yöntemlerden biri olarak görülmektedir. Şerit yönteminin kullanıcılar için çok basit ve kullanışlı olduğu düşünüldüğünde, şerit testinin hassasiyetini arttırmak için, geleneksel altın nanoparçacık bazlı test hassasiyetine göre birkaç kat daha fazla test duyarlılığı artırılarak birçok TRFICA geliştirilmiştir. AFM1 tespiti, toplam aflatoksin (AFB1+B2+G1+G2) tespiti için TRFICA'nın gıdalarda ve tarımsal ürünlerde aflatoksinin izlenmesinde önemli araçlardan biri olabileceği bildirilmektedir (Li ve ark., 2020).

AF-alb analizleri genellikle insanlarda aflatoksin maruziyeti için bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. İnsan kanında aflatoksin serum albümini için kullanılan ELISA yöntemi, süt sığırlarından toplanan sığır kan serum örneklerini (n=22) analiz etmek için kullanılmıştır. Albümin verileri ile bu ineklerden alınan süt örneklerinde AFM1 seviyeleri karşılaştırılmış araştırmada bu yöntemin, AF-alb tayiniyle süt sığırlarında kronik aflatoksin maruziyetinin bir ölçüsü olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır (Saltzman ve ark., 2020).

Günümüzde giderek daha fazla üretici, ürünlerinin kalitesini izlemek için yerinde test yöntemlerini kullanmak istemektedirler. Bu amaçla farklı analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Geliştirilen immünoanalizler arasında aflatoksin tayini için membran bazlı şerit deneyi, ELISA'dan daha düşük duyarlılığa sahip olmasına rağmen, giderek daha popüler hale geldiği vurgulanmıştır (Anfossi ve ark., 2013; Wang ve ark., 2016).

YEMLERDE VE SÜTLERDE BULUNMASINA İZİN VERİLEN AFLATOKSİN DÜZEYLERİ

Çoğu ülkeler ve kuruluşlar, küflenmelerden ileri gelebilecek problemleri en aza indirmek için, başta aflatoksinler olmak üzere mikotoksin miktarlarının sınırlandırılmasıyla ilgili yasal düzenlemeler yapmıştır (Li ve ark., 2020). AFM1, sütte maksimum kalıntı limitlerinin (MRL) oluşturulduğu tek mikotoksin olup, AFB1 ile benzer şekilde kanserojenik ve immünoşüpresif etkileri bildirilmiştir (Marchese ve ark., 2018b). AFM1'in, yeni doğanların ilk ve tek gıdası olan anne sütünde de var olduğu düşünüldüğünde çok fazla dikkate değer görülmüştür (Jafari ve ark., 2017).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) gibi kuruluşlar ilk olarak gıdalarda tolere edilebilecek aflatoksin miktarını 30 ppb olarak belirlemiştir. Daha sonra Avrupa ülkeleri bu normlardan daha düşük miktarları benimsemiş ve Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu (UNICEF) gibi kuruluşlar çocuklar tarafından tüketilecek miktarın daha düşük olması gerektiğini vurgulamıştır. İnsan ve hayvanlarda akut, kronik ve karsinojenik etkilerden kaçınmak için yem ve yem hammaddeleri ile gıdalarda izin verilen en yüksek düzey Amerika Besin ve İlaç Dairesi tarafından (FDA) 20 ppb güvenli düzey olarak belirlenmiştir (Kaya ve Şanlı, 2002).

Türkiye'de çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt için maksimum limit 0,050 µg/kg olarak belirlenmiştir. Ancak, bebek formülleri ve devam formülleri için (bebek sütleri ve devam sütleri dahil) 0,025 µg/kg olarak kabul edilmiştir. Bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında AFB1 maksimum limiti ise 0,10 µg/kg olarak belirlenmiştir (TGK, 2011).

Yemlerde bulunan 200 ppb'ye kadar olan aflatoksin kalıntıları, klinik olarak akut ve subakut belirtileri ender bir durumken bu miktarın kronik zehirlenmelere yol açabileceği bildirilmektedir. Hayvanlarda immün sistemin baskılanması, kanın biyokimyasal yapısında değişiklikler (pıhtılaşmada görevli protein sentezinin aksamaması), başta safra kanalları olmak üzere karaciğer ve diğer dokularda hücre hasarına yol açması nedeniyle bazı limitler getirilmiştir (Kaya ve Şanlı, 2002). Ülkemizde, yemlerde istenmeyen maddeler kapsamında hayvan yemi olarak kullanılan ürünlerde Aflatoksinlerin (B1, B1+B2+G1+G2) kabul edilebilir maksimum miktarları belirlenmiştir. Bu kapsamda %12 rutubet içeren yeme göre yem maddelerinde en yüksek miktar 0,02 mg/kg (ppm) olarak tespit edilmiştir. Süt sığırları ve buzağular, süt koyunları ve kuzular, süt keçileri ve oğlaklar için karma yemlerinde ise maksimum limit 0,005 mg/kg olarak kabul edilmiştir (TGK, 2011).

EC kapsamında çiğ süt, kuru ya da işlenmiş süt ürünlerindeki AFM1 düzeyinin 50 ng/kg (0,05 ppb)'ı aşmaması gerektiği belirtilmiştir. Amerika'da AFM1 miktarı, yasal limitlere göre 500 ng/kg (0,50 ppb)'ı aşmamalıdır. Pek çok ülkede sütte ve süt ürünlerinde resmi bir AFM1 düzenlemesine gidilmemiştir (Rastogi, 2004). Aflatoksinin zararlı etkileri nedeniyle, birçok ülke ve uluslararası kuruluşlar yem ve gıdadaki AF seviyelerini sıkı bir şekilde düzenlemiştir. Bu nedenle, sütte kabul edilebilir en yüksek AFM1 seviyesi, Avrupa Birliği (AB) ve Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından belirlendiği üzere, sırasıyla 0,05 µg/kg ve 0,5 µg/kg arasında değişmektedir (EC, 2006). Bu nedenle, ABD, Brezilya, Japonya ve Hindistan'da sütte kabul edilen AFM1 sınırı (0,5 µg/kg, ppb) iken; Fransa, Almanya, Belçika, Avustralya ve Türkiye'de (0,05

µg/kg, ppb) diğer ülkelere kıyasla daha az sınırlama getirilmiştir (Ismail ve ark., 2016).

AFLATOKSİNLERİN ÖNLENMESİ VE KONTROLÜ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 2016 yılında yapılan küresel bir değerlendirmede, küresel hastalık yükünün %24'ünün ve tüm ölümlerin %23'ünün insan sağlığına etki eden fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikeler de dahil olmak üzere değiştirilebilir çevresel faktörlere bağlı olduğu bildirilmiştir (Prüss-Ustün ve ark., 2016).

İyi Tarım Uygulamaları (GAP) uygulaması, gıda ve yemlerdeki AF miktarını sınırlamanın en iyi yoludur ancak mutlak önlenmesini garantileyemez (Karlovsky ve ark., 2016). Ayrıca, hasat öncesi ve sonrası AF'e maruziyeti azaltmak için yenilikçi teknolojilerin uygulanması tavsiye edilmektedir. Bu teknolojilerin bazıları ozon fumigasyonu (Palou, 2002), biyolojik ışınlama (Kanapitsas ve ark., 2015; Markov ve ark., 2015) ve kimyasal ajanlardır (Udomkun ark., 2015). Süt gibi sıvı ürünlerde AFM1 bağlama yeteneğinin araştırıldığı çalışmalarda, probiyotik bakterilerin biyofilmleri (Assaf ve ark., 2019b) ile kitin veya karides kabuğunun (öğütülmüş ve öğütülmemiş) (Assaf ve ark., 2018) farklı inkübasyon sürelerinde ve sıcaklıklarında analizleri yapılmıştır. Bu gibi oldukça umut verici teknikler ve araştırmalar hala devam etmektedir.

Ülkemizde gıda olarak tüketilen süt ve süt ürünleriyle çeşitli tahıl ürünleri ve hayvan yemlerinden belirli aralıklarla plan dâhilinde ilgili otoritelerce düzenli numuneler alınmakta ve ücretsiz olarak analiz edilmektedir. Kalıntı İzleme Planı kapsamında yemde AFB1 ve sütte AFM1, maksimum kalıntı limiti üzerinde tespit edildiğinde zaman geçirilmeden geri izleme prosedürü uygulanmaktadır. 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri,

Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu, kalıntı izleme programlarında esas alınan Kanun'dur. Kanunun 21., 22., 23., 24., 25., 26., 31., 32., 34., maddeleri kalıntı limitlerinin aşılması durumunda geri izleme çalışmalarının yürütülmesini sağlayan Kanun maddeleridir. Kalıntı izleme programlarında Kanun'un 37., 40. ve 41. maddeleri uygulanan yaptırımların yasal dayanağını teşkil etmektedir.

Süt ve süt ürünlerine uygulanan pastörizasyon işlemleri ısıya dayanıklı olan AFM1 miktarını etkilemediğinden, yürütülmekte olan izleme programlarının temel stratejisi hem insan hem de hayvanlar için maruz kalma riskinin azaltılmasına yöneliktir (Lopez ve ark., 2003). Aflatoksinlerle kontamine olmuş ürünlerin kullanılmaması ve ticaretinin yasaklanması bir çözüm yoludur (Udomkun, 2017). Doğrudan veya dolaylı olarak sütteki AFM1 azaltımına yol açan stratejiler, iyi tarım uygulamalarını benimsemekten yenilikçi detoksikasyon yöntemlerini kullanmaya kadar değişmektedir (Assaf ve ark., 2017; Assaf ve ark., 2018). Süt üreten hayvanların AFB1'li yemleri tüketmelerinin önüne geçilmesi AFM1 için en önemli basamağı oluşturmaktadır.

Yemlerde küf gelişiminin kontrol edilmesi için hammaddenin tarlada gelişimi, hasadı, depolanması, nakliyesi ve ürünlerin işlenmesi aşamalarında kontaminasyonun engellenmesi tüm mikotoksinlerin önlenmesi için önemlidir. Yem maddelerinde, kontaminasyonu önlemek ve üründen uzaklaştırmak için fiziksel, kimyasal ve biyolojik pek çok yöntem denenmektedir. Ayrıca, mikroorganizmalar ve bunların saflaştırılmış enzimatik ürünleri gibi farklı biyotransformatörlerin yemlerde kullanılması, AF molekülünün katabolizasyonuna, parçalanmasına veya toksik olmayan metabolitlere dönüştürülmesine yol açabilir. Benzer şekilde bentonit, hidratlı sodyum

kalsiyum alüminosilikat (HSCAS), zeolit ve aktif kömür de dahil olmak üzere çeşitli kil materyalleri, kontamine yemlerde AF'yi azaltmak için önemi gösterilmiştir. Ancak bu zamana kadar AF kontaminasyonunu azaltmak için en çok çalışılan yöntemler, esas olarak bakteri ve maya gibi biyolojik adsorbanların kullanımına dayanmaktadır (Giovari ve ark., 2015).

Sonuç olarak süt ve ürünlerinde AFM1'in bulunma oranının yüksek olduğu ve halk sağlığını tehdit edebilecek düzeylerde bulunabileceği bilinmektedir. İnsan ve hayvanlarda verim kayıpları yanında çeşitli virüs ve kanserlerle ilişkilendirilen AFB1 ve AFM1'in önemi ve eliminasyon yöntemleri gün geçtikçe ilerleme kaydetmektedir. Geliştirilen analiz ve eliminasyon yöntemleriyle, yem ve ham maddelerinde AFB1 ile süt ve ürünlerinde AFM1'in korunma ve kontrolüne titizlikle uyulmaya devam edilmelidir. Bu nedenle, ülkemizde yem, çeşitli gıdalar, süt ve süt ürünleri konusunda faaliyet gösteren kişi ve kuruluşların, üretici ve tüketicilerin, çeşitli etkinliklerle bilgilendirerek bilinçlendirilmelerinin sağlanmasında yarar vardır.

KAYNAKLAR

- Ajani, J., Chakravarthy, DVS., Tanuja, P., & Vali Pasha, K. (2014). Aflatoxins. *Indian J Adv Chem Sci*, 3, 49-60.
- Akdemir, Ç., & Altıntaş, A. (2004) Ankara'da işlenen sütlerde aflatoksin-M1 varlığının ve düzeylerinin HPLC ile araştırılması. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 51, 175-179.
- Anfossi, L., Baggiani, C., Giovannoli, C., Biagioli, F., D'Arco, G., & Giraudi, G. (2013). Optimization of a lateral flow immunoassay for the ultrasensitive detection of aflatoxin M1 in milk. *Anal Chim Acta*, 772, 75-80.
- Assaf, J.C., Atoui, A., El Khoury, A., Chokr, A., & Louka, N.A. (2017). Comparative study of procedures for binding of aflatoxin M1 to *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Brazilian J Microbiol*, 49, 120-127.
- Assaf, J.C., El Khoury, A., Atoui, A., Louka, N., & Chokr, A. (2018). A novel technique for aflatoxin M1 detoxification using chitin or treated shrimp shells: In vitro effect of physical and kinetic parameters on the binding stability. *Appl Microbiol Biotechnol*, 102, 6687-6697.
- Assaf, J.C., EL Khoury, A., Chokr, A., Louka, N., & Atoui, A. (2019b). A novel method for elimination of aflatoxin M1 in milk using *Lactobacillus rhamnosus* GG biofilm. *Dairy Technol*, 70, 1-9.
- Assaf, J.C., Nahle, S., Chokr, A., Louka, N., Atoui, A., & Khoury, A. (2019a). Assorted methods for decontamination of aflatoxin M1 in milk using microbial adsorbents. *Review Toxins (Basel)*, May 29, 11 (6), 304.
- Atasever, M.A., Adıgüzel, G., Atasever, M., Özlü, H., & Özturan, K. (2010a). Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Erzurum-Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 119-122.
- Atasever, M.A., Adıgüzel, G., Atasever, M., & Özturan, K. (2010b). Determination of Aflatoxin M1 Levels in Some Cheese Types Consumed in Erzurum-Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (Suppl-A): S87-S91, 2010. DOI:10.9775/kvfd.2009.1639.
- Atasever, M.A., Atasever, M., & Özturan, K. (2011). Aflatoxin M1 levels in retail yoghurt and ayran in Erzurum in Turkey Atatürk University. *Turk J Vet. Anim Sci*, 35 (1), 59-62.
- Bovo, F., Ganey, K.C., Mousavi, A., Portela, B., Cruz, A.G., Granato, D., Corassin, C.H., Augusto, C., Oliveira, F., & Sant, A.S. (2016). The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M1: A review. *Food Control*, 68, 310-329.
- Chen, G., Gong, Y.Y., Martin, E., Kimanya, M.E., Shirima, C.P., & Routledge, M.N. (2018). Comparison of urinary aflatoxin M1 and aflatoxin albumin adducts as biomarkers for assessing aflatoxin exposure in Tanzanian children. *Comparative Study Journal Biomarkers Mar*, 23 (2), 131-136.
- Chu, Y.J., Yang, H.L., Wu, H.C., Liu, J., Wang, L.Y., Lu, S.N., Lee, M.H., Jen, C.L., You, S.L., Santella, R.M., & Chien-Jen, C. (2017). Aflatoxin B1 exposure increases the risk of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus carriers. *Int J Cancer*, 141, 711-720.
- Danesh, N.M., Bostan, H.B., Abnous, K., Ramezani, M., Youssefi, K., Taghdisi, S.M., & Karimi, G. (2018). Ultrasensitive detection of aflatoxin B1 and its major metabolite aflatoxin M1 using aptasensors: a review. *Trends Anal Chem*, 99, 117-128. doi: 10.1016/j.trac.2017.12.009.
- Deng, H., Su, X., & Wang, H. (2017). Simultaneous determination of aflatoxin B1, bisphenol A, and 4-nonylphenol in peanut oils by liquid-liquid extraction combined with solid-phase extraction and ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Anal Method*, 11, 1303-1311.
- Donnelly, P.J., Stewart, R.K., Ali, S.L., Conlan, A.A., Reid, K.R., Petsikas, D., & Massey, T.E. (1996). Biotransformation of aflatoxin B1 in human lung. *Carcinogenesis*, 17, 2487-2494.
- Erkan, S., Demir, P., & Öksüztepe, G. (2018). Elazığ'da satışa sunulan Şavak Tulum peynirlerinin Aflatoksin M1 (AFM1) ve bazı kimyasal

- parametreler bakımından incelenmesi. FÜ Sağ Bil Vet Derg, 32 (1), 45-51.
- Erol, İ. (2007). Gıda hijyeni ve mikrobiyolojisi. Ankara, Turkey: Pozitif Matbaacılık.
- EC (2006). European Commission, Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006. Off. J. Eur. Union, 364, 5.
- Fallah, AA. (2010). Assessment of aflatoxin M1 contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. Food Chem Toxicol, 48, 988-991.
- Fedele, BI., Chawanthayatham, S., Croy, RG., Wogan, GN., & Essigmann, JM. (2017). Early detection of the aflatoxin B1 mutational fingerprint: A diagnostic tool for liver cancer. Mol Cell Oncol, 4, e1329693:1-e1329693:3.
- Gao, YN., Wang, JQ., Li, SL., Zhang, YD., & Zheng, N. (2016). Aflatoxin M1 cytotoxicity against human intestinal Caco-2 cells is enhanced in the presence of other mycotoxins. Food Chem Toxicol, 96, 79-89.
- Giovati, L., Magliani, W., Ciociola, T., Santinoli, C., Conti, S., & Polonelli, L. (2015). AFM1 in milk: physical, biological, and prophylactic methods to mitigate contamination. Toxins (Basel), 7, 4330-4349.
- Harrison, JC., Carvajal, M., & Garner, RC. (1993). Does aflatoxin exposure in the United Kingdom constitute a cancer risk? Environ Health Perspect, 99, 99-105.
- He, XY., Tang, L., Wang, SL., Cai, QS., Wang, JS., & Hong, JY. (2006). Efficient activation of aflatoxin B1 by cytochrome P450 2A13, an enzyme predominantly expressed in human respiratory tract. Int J Cancer, 118, 2665-2671.
- Hu, LM., Luo, K., Xia, J., Xu, GM., Wu, CH., Han, JJ, Zhang, GG., Liu, M., & Lai, WH. (2017). Advantages of time-resolved fluorescent nanobeads compared with fluorescent submicrospheres, quantum dots, and colloidal gold as label in lateral flow assays for detection of ractopamine. Biosens Bioelectron, 91, 95-103.
- Hussein, HS., & Brasel, JM. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 167, 101-134.
- Ismail, A., Akhtar, S., Levin, RE., Ismail, T., Riaz, M., & Amir, M. (2015). Aflatoxin M1: Prevalence and decontamination strategies in milk and milk products. Crit Rev Microbiol, 42, 418-427.
- Ismail, A., Akhtar, S., Levin, RE., Ismail, T., Riaz, M., & Amir, M. (2016). Aflatoxin M1: Prevalence and decontamination strategies in milk and milk products. Crit Rev Microbiol, 42, 418-427.
- İşleyici, Ö., Morul, F., & Sancak, YC. (2012). Van'da tüketime sunulan UHT sterilize inek sütlerinde aflatoxin M1 düzeyinin araştırılması. YYU Vet Fak Derg, 23 (2), 65-69.
- Jafari, T., Fallah, AA., Kheiri, S., Fadaei, A., & Amini, SA. (2017). Aflatoxin M1 in human breast milk in Shahrekord, Iran and association with dietary factors. Food Addit. Contam Part B, 10, 128-136.
- Joubert, BR., Mantooth, SN., & McAllister, KA. (2020). Environmental Health Research in Africa: Important Progress and Promising Opportunities. Review Front Genet, Jan 16, 10, 1166.
- Kamkar, A., Jahed Khaniki, GHR., & Alavi, SA. (2011). Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Ardebil of Iran. Iran. J Environ Health Sci Eng, 8 (2), 123-128.
- Kanapitsas, A., Batrinou, A., Aravantinos, A., & Markaki, P. (2015). Effect of γ -radiation on the production of aflatoxin B1 by *Aspergillus parasiticus* in raisins (*Vitis vinifera* L.). Radiat Phys Chem, 106, 327-332.
- Karlovsky, P., Suman, M., Berthiller, F., de Meester, J., Eisenbrand, G., Perrin, I., Oswald, IP., Speijers, G., Chiodini, A., Recker, T., & Dussort, P. (2016). Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. Mycotoxin Res, 32, 179-205.
- Kaya, S, & Şanlı, Y. (2002). Medikal Veterinerlik Hizmetleri Hayvansal Ürünler Ticaret ve Paz. Ltd. Şti. Yayını; ISBN 975-6676-08-6.
- Kaya, S. (1989). Yem ve besinlerdeki mikotoksinler: İnsan ve hayvan sağlığı için önemleri. Ankara Univ Vet Fak Derg, 36 (1), 226-253.
- Kızıl, M., Demir, P., Erkan, S., & Öksüztepe, Ö. (2017). Elazığ ilinde satılan çiğ süt ve UHT sütlerde Aflatoxin M1 düzeyi. Dicle Üniv Vet Fak Derg 10 (2), 115-121.
- Kong, WJ., Li, JY., Qiu, F., Wei, JH., Xiao, XH., Zheng, YG., & Yang, MH. (2013). Development of a sensitive and reliable high-performance liquid chromatography method with fluorescence detection for high-throughput analysis of multi-class mycotoxins in coix seed. Anal Chim Acta, 799, 68-76.
- Kucukcakan, B., & Hayrulai-Musliu, Z. (2015). Challenging role of dietary aflatoxin B1 exposure and hepatitis B infection on risk of hepatocellular carcinoma. Open Access Maced J Med Sci, 3, 363-369.
- Kumar, P., Mahato, DK., Kamle, M., & Mohanta, TK. (2017). Aflatoxins: A global concern for food safety, human health and their management. Front Microbiol, 7, 1-10.
- Li, H., Wang, D., Tang, X., Zhang, W., Zhang, Q., & Li, P. (2020). Time-resolved fluorescence immunochromatography assay (TRFICA) for Aflatoxin: aiming at increasing strip method sensitivity. Front Microbiol, 6 (11), 676.
- Li, H., Xing, L., Zhang, M., Wang, J., & Zheng, N. (2018). The toxic effects of aflatoxin B1 and aflatoxin M1 on kidney through regulating l-proline and downstream apoptosis. Biomed Res Int, 1-11.
- Liu, Y, & Wu, F. (2010). Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: A risk assessment. Environ Health Perspect, 118, 818-824.
- Lopez, CE., Ramos, LL., Ramadan, SS., & Bulacio, LC. (2003). Ribesence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. Food Control, 14, 31-34.
- Lu, PX., Wang, JB., Zhang, QN., Wu, Y., Sun, Y., & Chen, TY. (2010). Longitudinal study of aflatoxin exposure in the development of primary liver

- cancer in patients with chronic hepatitis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 90, 1665-1669.
- Mahmood Fashandi, H., Abbasi, R., & Mousavi Khaneghah, A. (2018). The detoxification of aflatoxin M1 by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.*: A review. *Food Process Preserv*, 42, 1-10.
- Marchese, S., Polo, A., Ariano, A., Velotto, A., Costantini, S., & Severino, L. (2018a). Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development. *Review Toxins*, (Basel) May 24, 10 (6), 214.
- Marchese, S., Polo, A., Ariano, A., Velotto, S., Costantini, S., & Severino, L. (2018b). Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development. *Toxins*, (Basel) 10, 1-19.
- Markov, K., Mihaljević, B., Domijan, AM., Pleadin, J., Delaš, F., & Frece, J. (2015). Inactivation of aflatoxigenic fungi and the reduction of aflatoxin B1 invitro and in situ using gamma irradiation. *Food Control*, 54, 79-85.
- Mohammed, S., Munissi, JE., Nyandoro, S. (2016). Aflatoxin M1 in raw milk and aflatoxin B1 in feed from household cows in Singida, Tanzania. *Food Addit Contam*, 9, 85-90.
- Mokhles, M., Abd El Wahhab, MA., Tawfik, M., Ezzat, W., Gamil, K., & Ibrahim, M. (2007). Detection of aflatoxin among hepatocellular carcinoma patients in Egypt. *Pak J Biol Sci*, 10, 1422-1429.
- Motawee, M. (2013). Reduction of Aflatoxin M1 Content during Manufacture and Storage of Egyptian Domaiti Cheese. *Vet Med*, 11.
- Nugraha, A., Khotimah, K., & Rietjens, IMCM. (2018). Risk assessment of aflatoxin B1 exposure from maize and peanut consumption in Indonesia using the margin of exposure and liver cancer risk estimation approaches. *Food Chem Toxicol*, 113, 134-144.
- Özkaya, Ş., Başaran, A., Kaymak, T., Çoksöyler, N., Kesici, S., Balıkcı, T., Özkan, R., & Alma, A. (2002). Gıda ve yemlerde mikotoksin düzeylerinin tespiti. Bölüm 2: Türkiye’de üretilen süt ve peynirlerde aflatoksin M1 aranması. Gıdalarda katkı, kalıntı ve bulaşanların izlenmesi II. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma-Kontrol Genel Müdürlüğü Tebliği, Bursa.
- Palou, L., Crisosto, CH., Smilanick, JL., Adaskaveg, JE., & Zoffoli, JP. (2002). Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biol Technol*, 24, 39-48.
- Polat, F. (2013). Hatay ili süt ineği işletmelerinde kullanılan yemlerin aflatoksin düzeylerinin belirlenmesi ve bu yemlerin kan parametreleri ile sütteki aflatoksin düzeyleri üzerine etkisi. Hatay, Turkey, Thesis of PhD, AU, diss.
- Prüss-Ustün, A., Wolf, J., Corvalán, CF., Neville, T., Bos, R., & Neira, M. (2016). Diseases due to unhealthy environments: an updated estimate of the global burden of disease attributable to environmental determinants of health. *J Public Health*, 39 (3), 464-475.
- Radonić, JR., Tanackov, SDK., Mihajlović, IJ., Zorica, S., Miloradov, MBV., Škrinjar, MM., & Turk, MM. (2016). Occurrence of aflatoxin M1 in human milk samples in Vojvodina, Serbia: Estimation of average daily intake by babies. *J. Environ. Sci. Health Part B*, 52, 59-63.
- Rapisarda, V., Loreto, C., Malaguarnera, M., Ardiri, A., Proiti, M., Rigano, G., Frazzetto, E., Ruggeri, MI., Malaguarnera, G., Bertino, N., Malaguarnera, M., Catania, VE., di Carlo, I., Toro, A., Bertino, E., Mangano, D., & Bertino, G. (2016). Hepatocellular carcinoma and the risk of occupational exposure. *World J Hepatol*, 8, 573-590.
- Rastogi, S., Dwivedi, PD., Khanna, SK., & Das, M. (2004). Detection of aflatoxin M1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Control*, 15, 287-290.
- Saad-Hussein, A., Beshir, S., Moubarz, G., Elserougy, S., & Ibrahim, MI. (2013). Effect of occupational exposure to aflatoxins on some liver tumor markers in textile workers. *Am J Ind Med*, 56, 818-824.
- Saltzman, J., Xu, Y., Gong, YY., Lindahl, J., Kersten, S., Dänicke, S., & Routledge, MN. (2020). Preliminary Study on the Relationship Between Aflatoxin-Bovine Serum Albumin Adducts in Blood and Aflatoxin M1 Levels in Milk of Dairy Cows. *Mycotoxin Res*, May, 36 (2), 207-211.
- Scholl, PF., & Groopman, JD. (2008). Long-term stability of human aflatoxin B1 albumin adducts assessed by isotope dilution mass spectrometry and high performance liquid chromatography-fluorescence. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*, 17, 1436-1439.
- Shejoooni-Fumani, N., Hassan, J., & Yousefi, SR. (2011). Determination of aflatoxin B1 in cereals by homogeneous liquid-liquid extraction coupled to high performance liquid chromatography-fluorescence detection. *J Sep Sci*, 34, 1333-1337.
- Shi, J., He, J., Lin, J., Sun, X., Sun, F., Ou, C., & Jiang, C. (2016). Distinct response of the hepatic transcriptome to aflatoxin B1 induced hepatocellular carcinogenesis and resistance in rats. *Sci Rep*, 6, 31898:1-31898:9.
- Sulaiman, SH., Jamaluddin, R., & Sabran, MR. (2018). Association Between Urinary Aflatoxin (AFM1) and Dietary Intake Among Adults in Hulu Langat District, Selangor, Malaysia. *Nutrients*, Apr 7, 10 (4), 460.
- Sun, Y., Zixuan Liu, Z., Dandan Liu, D., Jin Chen, J., Fang Gan, F., Huang, K. (2018). Low-level aflatoxin B1 promotes influenza infection and modulates a switch in macrophage polarization from M1 to M2. *Cell Physiol Biochem*, 49 (3), 1110-1126.
- Sun, Z., Lu, P., Gail, MH., Pee, D., Zhang, Q., Ming, L., Wang, J., Wu, Y., Liu, G., Wu, Y., & Zhu, Y. (1999). Increased risk of hepatocellular carcinoma in male hepatitis B surface antigen carriers with chronic hepatitis who have detectable urinary aflatoxin metabolite M1. *Hepatology*, 30, 379-383.
- Sweeney, MJ., & Dobson, DW. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and

- Penicillium sp.* International Journal of Food Microbiology, 43, 141-158.
- Şanlı, Y. (1995). Veteriner Klinik Toksikoloji. Bölüm 2/Özel Toksikoloji, Mikotoksinler, 14, 283-328.
- Tsai, FJ., Chen, SY., Liu, YC., Liao, HY., & Chen, CJ. (2017). The comparison of CHCA solvent compositions for improving LC-MALDI performance and its application to study the impact of aflatoxin B1 on the liver proteome of diabetes mellitus type 1 mice. PLoS ONE, 12, e0181423:1-e0181423:16.
- TGK (2011). Türk Gıda Kodeksi, Bulaşanlar Yönetmeliği. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 sayılı Resmi Gazete (3. Mükerrer).
- Udomkun, P., Nimo, A., Nagle, M., Müller, J., Vanlauwe, B., & Bandyopadhyay, R. (2017). Innovative technologies to manage aflatoxins in foods and feeds and the profitability of application-A review. Food Control, 76, 127-138.
- Van der Fels-Klerx, HJ., Vermeulen, LC., Gavai, AK., & Liu, C. (2019). Climate change impacts on aflatoxin B1 in maize and aflatoxin M1 in milk: A case study of maize grown in Eastern Europe and imported to the Netherlands. PLoS One, Jun 27, 14 (6), e0218956.
- Van Vleet, TR., Watterson, TL., Klein, PJ., & Jr Coulombe, RA. (2006). Aflatoxin B1 alters the expression of p53 in cytochrome P450-expressing human lung cells. Toxicol Sci, 89, 399-407.
- Veldman, A., Meijs, J., Borggreve, G., & Heeres-van der Tol, J. (1992). Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. Anim Sci, 55, 163-168.
- Verma, RJ. (2004). Aflatoxin cause DNA damage. Int J Hum Genet, 4 (4), 231-236.
- Villers, P. (2014). Aflatoxins and safe storage. Front Microbiol, 5, 1-6.
- Wang, D., Zhang, ZW., Li, PW., Zhang, Q., & Zhang, W. (2016). Time resolved fluorescent immuno chromatography of aflatoxin B1 in soybean sauce: A rapid and sensitive quantitative Analysis. Sensors, 1094-1102.
- Weidenbörner, M. (2001). Encyclopedia of food mycotoxins. Springer-Verlog, Berlin.
- Williams, JH., Phillips, TD., Jolly, PE., Stiles, JK., Jolly, CM., & Aggarwal, D. (2018). Human aflatoxicosis in developing countries: A review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. Am J Clin Nutr, 80, 1106-1122.
- Yu, MW., Lien, JP., Chiu, YH., Santella, RM., Liaw, YF., & Chen, CJ. (1997). Effect of aflatoxin metabolism and DNA adduct formation on hepatocellular carcinoma among chronic hepatitis B carriers in Taiwan. J Hepatol, 27, 320-330.
- Zhang, J., Zheng, N., Liu, J., Li, FD., Li, SL., & Wang, JQ. (2015). Aflatoxin B1 and aflatoxin M1 induced cytotoxicity and DNA damage in differentiated and undifferentiated Caco-2 cells. Food Chem Toxicol, 83, 54-60.
- Zhao, M., Wang, P., Guo, Y., Wang, L., Luo, F., Qiu, B., Guo, L., Su, X., Lin, Z., & Chen, G. (2018). Detection of aflatoxin B1 in food samples based on target-responsive aptamer-crosslinked hydrogel using a hand held pH meter as readout. Talanta, 176, 34-39.