



T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HATAY KÜNEFE PEYNİRİNDE AFLATOKSİN M1 DÜZEYİNİN LC-
MS/MS YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ ve *Listeria monocytogenes*
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Melisa GÜLTEKİN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
HAZİRAN - 2022**



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HATAY KÜNEFE PEYNİRİNDE AFLATOKSİN M1 DÜZEYİNİN LC-
MS/MS YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ ve *Listeria monocytogenes*
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Melisa GÜLTEKİN
ORCID:0000-0003-3341-5619

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Ahmet Doğan DUMAN
ORCID: 0000-0001-6143-6367

HATAY
HAZİRAN - 2022

03/06/2022

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Melisa GÜLTEKİN

ÖZET

HATAY KÜNEFE PEYNİRİNDE AFLATOKSİN M1 DÜZEYİNİN LC-MS/MS YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ VE *Listeria monocytogenes* VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Gıda tedariği, güvenliği ve güvencesi son yılların en stratejik önem noktasını oluşturmıştır. Gıdalardaki *L. monocytogenes* ve Aflatoksin M1 varlığı halk sağlığını doğrudan ve dolaylı olarak tehdit eden iki önemli bulaşandır. Mikotoksinler, küfler tarafından salgılanan hem akut hem kronik metabolitlerdir. Tarımsal ürünlerde risk ve tehlike oluşturan öncelikli aflatoksinler B1, B2, G1 ve G2 şeklinde ön plana çıkmaktadır. Süt ve süt ürünlerinde yemlerden kaynaklı ve B1 toksinin metabolik dönüşümü ile en sık rastlanan tür Aflatoksin M1'dir. Dünyada ve ülkemizde yapılan birçok çalışma peynirlerde listeriosis enfekte etmeni patojen karakterli *L. monocytogenes*'in aranmasını ön plana çıkarmaktadır. Bu çalışmada Hatay' da üretilen künefe peynirlerinde Aflatoksin M1 düzeyinin belirlenmesi ve *L. monocytogenes* karakterizasyonun araştırılması hedeflenmiştir. Çalışma kapsamında 60 adet künefe peynir örneği materyalleri çiğ süttten ve ısıt işlem görmüş süttten yapılmıştır. *L. monocytogenes* analizi için ISO 11290-1 yöntemi kullanılırken, Aflatoksin M1 için LC-MS/MS yöntemi kullanılmıştır. TGK (Türk Gıda Kodeksi) Bulaşanlar Yönetmeliğine göre çiğ süt, ısıt işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan sütte bulunabilecek maksimum Aflatoksin M1 değeri 0.05 µg/kg'dır. Ayrıca TGK Mikrobiyolojik kriterler yönetmeliğine göre peynirin (eritme peynir hariç diğer tüm peynirler) 25 gramında *L. monocytogenes* bulunmamalıdır. Analize alınan 60 peynir örneğinin Aflatoksin M1 ve *L. monocytogenes* bakımından TGK'ne uygun olduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamındaki peynir örneklerinin kodekse uygun oluşu üzerine piyasadaki künefe peynir çeşitlerinin güvenilir olduğu çıkarımında bulunamayız. Ülkemiz genelinde üretilen geleneksel peynirler üzerine yapılan birçok araştırmada Aflatoksin M1 ve *L. monocytogenes* kodekse uygun çıkmamış olup, üretiminden tüketimine kadar tüm proseste gerekli hijyenik önlemlerin alınması ve süt üreten hayvanların tükettiği yemin uygun iyi üretim koşullarında yapılması, uygun depolama koşulları ile hayvan refahına dikkat edilmesi önerilebilir.

2022, 55 sayfa

Anahtar Kelimeler: Peynir, Gıda Güvenliği, Listerosis, Aflatoksin M1, Kalite

ABSTRACT

DETERMINATION of AFLATOXIN M1 LEVEL in HATAY KÜNEFE CHEESE by LC-MS/MS METHOD and INVESTIGATION for the PRESENCE of LISTERIA MONOCYTOGENES

Food supply, safety and security has been the most strategically important point in recent years. The presence of *L. monocytogenes* and Aflatoxin M1 in foods are two important contaminants that directly and indirectly threaten public health. Mycotoxins are both acute and chronic metabolites secreted by molds. Priority aflatoxins, which pose risks and dangers in agricultural products, stand out as B1, B2, G1 and G2. Aflatoxin M1 is the most common type in milk and dairy products originating from feeds and metabolic conversion of B1 toxin. Many studies in the world and in our country emphasize the search for *L. monocytogenes*, which is the pathogen causing listeriosis in cheese. Within the scope of the study, 60 künefe cheese sample materials were made from raw milk and heat-treated milk. While ISO 11290-1 method was used for *L. monocytogenes* analysis, LC-MS/MS method was used for Aflatoxin M1. According to the TGK (Turkish Food Codex) Contaminants Regulation, the maximum Aflatoxin M1 value that can be found in raw milk, heat-treated milk, milk used in the production of milk-based products is 0.05 µg/kg. Also, according to the TGK Microbiological criteria regulation, cheese (all other cheeses except melted cheese) There should be no *L. monocytogenes* in 25 grams. It was determined that 60 cheese samples analyzed were suitable for the TGK in terms of Aflatoxin M1 and *L. monocytogenes*. We cannot conclude that the künefe cheese varieties in the market are reliable due to the compliance of the cheese samples within the scope of the study with the codex. In many studies on traditional cheeses produced in our country, Aflatoxin M1 and *L. monocytogenes* did not comply with the codex. It can be recommended to take the necessary hygienic measures in the whole process from production to consumption, to make the feed consumed by milk-producing animals in suitable good production conditions, to pay attention to animal welfare with appropriate storage conditions.

2022, 55 pages

Key Words: Cheese, Food Safety, Listeriosis, Aflatoxin M1, Quality

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın başlangıcından sonuna kadar sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmalarına ışık tutan ve yardımını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Ahmet Doğan DUMAN ve saygıdeğer juri üyelerine sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen, güvenen ve daima yanımda olan canım aileme, tez çalışması boyunca bana her konuda destek olan, motivasyonumu arttıran kıymetli eşim Kadir GÜLTEKİN'e ve yüksek lisans çalışmaları süresinde hayatımıza girip bana şans getiren, erken uyuyarak çalışmama olanak veren bebeklerim Lidya ve Çınar GÜLTEKİN'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Listeria monocytogenes</i>	8
1.1.1. Listeriosis	9
1.1.2. <i>Listeria monocytogenes</i> Kaynağı ve Yayılması	13
1.1.3. <i>Listeria</i> Türlerinin İzolasyonu	15
1.1.3.1 FDA(Food and Drug Administration) BAM (Bacteriological Analytical Manual) ve ISO(International Organization for Standardization) 11290	15
1.1.3.2 USDA (United States Department of Agriculture)/FSIS (Food Safety Information System) ve AOAC (Association of Official Analytical Chemists)/IDF (International Dairy Federation)	15
1.1.3.3 Hızlı Yöntemler.....	16
1.1.4. Kontaminasyon Riskini Azaltacak Önlemler	16
1.2. Mikotoksinler	18
1.2.1. Mikotoksinlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.....	19
1.2.2. Mikotoksinlerle Mücadele Yöntemleri.....	21
1.2.2.1 Mikotoksinlerin Toksik Olmayan Küf Suşları ile Kontrolü	22
1.2.2.2 Mikotoksinlerin Mikroorganizmalar ile Uzaklaştırılması.....	22
1.2.3. Mikotoksinleri Tanı Yöntemleri.....	23
1.2.3.1 TLC (İnce Tabaka Kromatografisi) Yöntemi	23
1.2.3.2 HPLC (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi) Yöntemi	23
1.2.3.3 Gaz Kromatografisi (GC).....	24
1.2.3.4 ELİSA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).....	24
1.2.3.5 İmmünoteknik Yöntemler	25
1.2.3.6 LC-MS/MS Yöntemi (Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi)	25
1.2.4. Aflatoksinler	26
1.2.4.1 Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 Oluşumu.....	28
1.2.4.2 Aflatoksin M1 ve Toksisitesi	29
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	31
2.1. <i>Listeria monocytogenes</i> Üzerine Yapılan Önceki Çalışmalar.....	31
2.2. Aflatoksin M1 Üzerine Yapılan Önceki Çalışmalar	33
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	36
3.1. Örneklerin Toplanması	36
3.2. Örneklerin Hazırlanması	36
3.2.1. Aflatoksin M1.....	36
3.2.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	38
4.1. <i>Listeria monocytogenes</i> varlığının Araştırılması.....	38
4.2. Aflatoksin M1 Analiz Sonuçları.....	39
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	43

KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	55



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bazı ülkelerde üretilen süt ve süt ürünleri istatistiği- bin ton-süt eşdeğeri (FAO, 2020)	4
Çizelge 1.2. Çeşitli ülkelerde peynir üretimi 2016-2020 (Bin ton) (OECD, 2020)	5
Çizelge 1.3. Peynir, eritme peynirler ve eritme peynir ürünlerine ait mikrobiyolojik değerler (Anonim, 2011a)	7
Çizelge 1.4. Dünya genelinde kaydedilmiş bazı listeriosis vakaları	12
Çizelge 1.5. Bazı mikotoksinlerin etkileri ve sebep oldukları hastalıklar (Girgin ve ark., 2001).....	20
Çizelge 1.6. Türk Gıda Kodeksinde bazı gıdalarda aflatoksin miktarları ($\mu\text{g/kg}$)'nın izin verilen maksimum değerleri (Anonim, 2011b)	27
Çizelge 1.7. Aflatoksin m1'in farklı ülkelerdeki süt ürünlerinde düzenlenmesi(Vaz ve ark.,2020)	29
Çizelge 1.8. Çeşitli ülkelerde süt ve süt ürünlerinde aflatoksin m1 yaygınlığı üzerine yapılan çalışmalar (Salari ve ark., 2020).....	30
Çizelge 4.1. Farklı süt türlerinde aflatoksin M1 oluşumu ve farklı süt türlerinde insan maruziyeti(Turna ve Wu, 2021)	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Farklı (taze, tuzlu ve boru tipi) künefe peynirlerinin üretim şeması (Günay, 2019).....	6
Şekil 1.2. <i>Listeria monocytogenes</i> 'in Mikroskopik Görüntüsü (Anonymous, 2022f)	13
Şekil 1.3. <i>Listeria monocytogenes</i> Bulaşı Karakteristikleri (Erol,2007).	14
Şekil 1.4. Aflatoksin B1'in aflatoksin m1'e dekarboksilize olmuş formu (Vaz ve ark., 2020).....	29



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Derece Celsius
µg	: mikrogram
Mg	: miligram
G	: gram
Kg	: kilogram
mL	: mililitre
µm	: mikrometre
Min	: Dakika
Ppm	: part per million (milyonda bir)
Ppb	:part per billion(milyarda bir)

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AOAC	:Association of Official Analytical Chemists
BAM	:Bacteriological Analytical Manual
CDC	:Centers for Disease Control and Prevention
ELİSA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	:Food and Drug Administration
GAP	:Good Agricultural Practices
GC	:Gas chromatography
HLPE	:High Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition
HPLC	: High performance liquid chromatography
IARC	: International Agency for Research on Cancer
IDF	:International Dairy Federation
IPCC	:Intergovernmental Panel on Climate Change
ISO	:International Organization for Standardization
OECD	:The Organisation for Economic Co-operation Development
TLC	:Thin layer chromatography
USDA	: United States Department of Agriculture
WHO	: World Health Organization

1. GİRİŞ

Beslenme, insanlığın en temel gereksinimlerinin başında gelmekte, beslenmenin önem ve talebi giderek artmaktadır. Sağlıklı bir yaşam sürmek için de gıda güvenliğinin esas alındığı yeterli ve dengeli bir beslenme şekli kazanılmalıdır. FAO gıda güvenliğini hanede bulunan tüm bireylerin risk ve tehlike taşımadan fiziksel ve ekonomik olarak yeterli gıdaya ulaşmasını önemser. Gıda zincirindeki her adımın (üretim, hasat, işleme, depolama, dağıtım, hazırlık, lojistik, tüketim) güvenli kalması gıda güvenliğinin sağlanmasında etkilidir (Anonymous, 2019).

Dünyada 8.5 milyar toplam nüfus içinde; çoğu kırsal kesimde yaşamakta olan 700 milyon insanın aşırı fakir olduğu, 800 milyon insanın müzmin olarak aç ve 2 milyar insanın da mikro besin eksikliği çektiği bilinmektedir. Öte yandan Birleşmiş Milletlerin bir parçası olan HLPE (Gıda Güvenliği ve Beslenme Üzerine Uzmanların Üst Seviye Paneli) gıdanın üretiminden tüketimine kadar gıdaların üçte birinin (%25-50 civarı) kaybolmakta olduğunu ya da israf edildiğini bildirmektedir. FAO'nun verilerine göre yüksek gelirli ülkelerde 670 milyon ton gıda kayboluyor ya da israf ediliyorken, düşük ve orta gelirli ülkelerde bu sayı 630 milyon tona ulaşılıyor. Gıda kayıp ve artıklarının yalnız insanlık için değil çevre için de olumsuz etkileri bulunmaktadır. Yiyecek israf edildiğinde su, toprak ve biyolojik çeşitlilik de israf edilmektedir (FAO, 2017). Alexandratos ve Bruinsma (2012), 2050 yılında tarım için doğal kaynaklardaki dengelerin bozulacağı, kıtlık ve kuraklık meydana geleceğini belirtmektedir. FAO dünyadaki tarım arazileri yapısının yüzde 33'ünün bozulmuş olduğunu 2014 yılında rapor etmiştir. Arazilerde meydana gelen istenmeyen bozulmalar da gıda güvenliği açısından önemli bir engeldir. Bunlarla birlikte ekonomileri birincil üretime dayalı olan ülkeler ekonomi sistemlerini değiştirerek sanayiye ve hizmet sektörüne yönelmeye başlamıştır. Böylelikle küçük ölçekli çiftçiler ve aile üyeleri yeni istihdam alanları arayarak tarım sektörünü tamamen terk etmektedirler. Tarım sektöründe meydana gelen küçülmeler sonunda ülke içinde ya da ülkeler arası göç kaçınılmaz olmaktadır. Birçok göçmen yoksulluk, güvenilir gıdaya erişimin zorluğu, doğal afetler, iklim değişikliği, doğal kaynakların tükenmesi gibi sebeplerle yer değiştirmektedir (FAO, 2017).

Gıda güvenliği ve tedariğini tehdit eden bir diğer unsur da iklim değişikliğidir. IPCC (Hükümetlerarası İklim Değişikliği Paneli)'nin 2014 yılından yayımlanan

raporuna göre sera gazlarının emisyon seviyeleri tarihin en yüksek seviyesine ulaşmıştır. IPCC'nin son değerlendirmesine göre düşük enlemli ülkeler iklim değişikliğinden sürekli olumsuz olarak etkilenirken kuzey enlemlerdeki üretimin daha belirsiz olduğu bildirilmiştir (Porter ve ark.,2014). IPCC'nin 2014 yılındaki raporunda düşük ve orta gelirli ülkelerde iklim değişikliğiyle birlikte kişi başına düşen kalori miktarının azalacağı, çocuklarda yetersiz beslenmeyle birlikte çocuk ölümlerinin de artacağı bildirilmiştir. FAO'nun bildirdiğine göre her ne kadar iklim değişikliğiyle meydana gelen yüksek sıcaklıklarda üretilen ürünlerin büyümesi iyileşse de gündüz saatlerde mahsul veriminin düştüğünü çalışmalar göstermiştir. Tohumların (buğday, pirinç, mısır, soya fasülyesi) verimi üzerine yapılan 1090 çalışmada iklim değişikliğinin uzun vadede verimi önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Ayrıca iklim değişikliğiyle meydana gelecek ısı ve su kıtlığının hayvan sağlığı üzerinde de etkisi olacağı, yem kalitesi ve arzını azaltacağı FAO tarafından bildirilmiştir. İklim değişikliğiyle birlikte meydana gelecek doğal afetler (kuraklık, sel, tropikal fırtına, orman yangınları) tarımsal üretimi ve güvenilir gıdaya ulaşımı olumsuz etkileyecektir. Kısaca iklim değişikliği küresel gıda üzerinde gıda arzını, gıda kalitesini, gıda erişimini ve kullanımını büyük ölçüde etkileyecektir. İklim değişikliğiyle meydana gelen yüksek sıcaklık ve daha az yağış temiz su miktarını azaltacak ishal gibi su kaynaklı hastalıkların artışı meydana gelecektir (FAO, 2017).

Dünya Sağlık Örgütü'nün 6 Haziran 2019 tarihli bildirgesinde dünyada her yıl her 10 kişiden 1'inin hastalandığı ve 400 bin kişinin hayatını bakteriyel, virütik paraziter ve toksik kimyevi maddeleri almasının ölümle sonuçlandığı rapor edilmiştir. Çeşitli salgın vakaları ile dünyada güvenilir gıda önemini bir kez daha ortaya koymuştur. Çin'in Wuhan kentinde 2019 yılında çıkan Covid-19 (Corona virus disease-2019) salgını tüm dünyayı üretim, tüketim, sosyal yaşam, ekonomi gibi konularda etkisi altına almıştır. Covid-19 salgınıyla ve korkusuyla birlikte insanların davranışları, gıda tüketimi alışkanlıkları ve gıdayı tedarik etme şeklini değişime uğratarak gıda israfında, tüketiminde artış meydana gelmiş böylece güvenilir gıdaya ulaşımı zorlaştırmıştır (Demir, 2021).

Nüfus artışı, kentleşme, yaşlanma, küresel-ulusal ekonomik gelişme, yatırım, ticaret, gıda fiyatları, doğal kaynaklar için rekabet, iklim değişimi, tarımsal verimlilik-innovasyon, anlaşmazlıklar (Rusya-Ukrayna savaşı-2022), sınır aşan hastalık (Covid-

19), yoksulluk, eşitsizlik, gıda güvencesizliği, beslenme-sağlık, yapısal değişim-işsizlik, göçler (Suriye iç savaşı-2011 ile Türkiye'ye gelen 3.8 milyon nüfus, Rusya-Ukrayna savaşı ile 2022-60 günlük sürede Polonya başta olmak üzere 5 milyon), değişen gıda sistemleri, gıda kayıpları ve atık, gıda ve beslenme güvenliği için yönetim ve gelişme finansmanı güncel bilgiler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Virüs ve mutasyonundaki belirsizlikten dolayı gıda güvenliği, tedarigi ve lojistiğin gelecekte de tehditler olabileceği HLPE'nin (High Level of Panel of Experts) 2020 tarihli araştırma yazısında bildirilmiştir. FAO'ya göre ülkelerde pandemi salgını için uygulanan kısıtlamalar neticesinde tarımsal ürünlerin tedarik zincirinde yaşanan aksaklıklarla öncelikli olarak meyve, sebze, et ve özellikle süt ürünlerinde zincir kırılmış ve yüksek oranda gıda kayıpları meydana gelmiştir (FAO, 2020). Bu tip hastalıklar ve felaketler sonrası insanların en iyi pratik uygulamaları yani iyi tarım, işleme, hijyenik koşullarda hazırlama, uygun ambalajlama, yeterli, dengeli ve sağlıklı besinlerin tercih edilmesi, güvenilir gıda ve tedarikinin kavranmasında daha etkili olmaya daha uygun bakış sağlamıştır (Demirhan ve Demirhan, 2020).

Tüm dünyayı etkileyen Covid-19 pandemisiyle birlikte vücut direncini arttırmak ve sağlıklı beslenmek amacıyla süt ve süt ürünlerine olan talep artmış böylece tedarik sürecinde aksaklıklar meydana gelmiştir. Dünyanın en hızlı bozulan ürünlerinden biri olan sütün, işleme tesislerindeki proseslerinin çoğu otomatik olsa da, bulaşı olma riski çok yüksektir (Acosta ve ark,2021). Süt multifonksiyonel özellikleri ile beden gelişimini destekleyen, içerdiği makro ve mikro besin bileşenleriyle insan sağlığını bebeklikten yaşlılığa kadar korumasında katkıda bulunan oldukça önemli bir temel gıdadır (Iqbal ve ark. , 2015; Mehenktaş, 2018). FAO'nun verilerine göre kültür ve ekonomik koşullar göz önüne alındığında kişi başına düşen günlük süt ve süt ürünleri tüketimi gelişmiş ülkelerde diğer ülkelere kıyasla daha fazladır. Benzer data ve istatistikler gösteriyor ki 2020 yılında dünyada süt üretimi 900 milyon tonu geçmiştir. Bu da demek oluyor ki 2019 yılına göre süt üretimi verilerle %2 artış göstermiştir (FAO, 2020). Çizelge 1.1.'de bazı ülkelerin 2016-2020 arasında ürettiği süt ve süt ürünleri miktarı bin ton cinsinden verilmiştir.

Çizelge 1.1. Bazı ülkelerde üretilen süt ve süt ürünleri istatistiği- bin ton-süt eşdeğeri (FAO, 2020)

Ülkeler	2016-2018	2019	2020
Çin	32 074	33 421	35 894
Hindistan	176 535	191 000	194 800
Türkiye	20 437	22 960	23 763
Mısır	5 232	4 646	4 654
Meksika	12 013	12 495	12 770
Brezilya	34 573	36 174	36 752
ABD	97 606	99 083	101 251
Avrupa Birliği	170 619	173 935	176 719
Rusya Federasyonu	30 195	31 360	32 215
Avustralya	9 471	8 832	9 087

Süt insan beslenmesinde temel gıda maddeleri arasında olmasına rağmen raf ömrü kısa ve muhafaza edilmesi zor bir üründür. Kalitesinin devam ettirilmesi ve dayandırılması için farklı yapılarda, değişik tat ve aromaların elde edilmesi amacıyla çok yönlü olarak birçok ürüne dönüştürülmektedir. Bu ürünler arasından peynir en çok tüketilen ve tercih edilen süt ürünüdür(Demirtaş,2006). 2020 yılı verilerine göre dünyada toplam süt üretimi 906 milyon tona ulaşmıştır. Ülkemizde içme sütü üretimi 1.613.144 ton iken sadece inek sütünden elde edilen peynir üretimi 739.775 tondur(Anonim,2022a). Peynir sütün sağım sonrası doğrudan ve/veya ısıtılma işlem görmesi ile pıhtılaştırılmasının (farklı pıhtılaşma süreleri, sıcaklık ve pH gibi parametreler eşliğinde) ardından oluşan pıhtıdan peyniraltı suyunun ayrılması ve pıhtının değişik proseslerle işlenmesiyle elde edilmektedir. Peynirin içinde süttten gelen protein, yağ, karbonhidrat, vitamin, mineraller ve diğer bileşenler bulunmaktadır. Besin değerinin yüksek olması ve zevkle tüketilmesinden kaynaklı birçok toplumun beslenme diyetinde direk ve dolaylı olarak önemli bir role sahiptir (Öztek, 1989).

Dünyanın birçok farklı yöresinde, yöreye özgü ve taleplere yönelik peynirler üretilmektedir. İnsanoğlunun 4000 yıl önce hayvan yetiştirmeye ve sütü işleme başladığı öngörülmektedir. Peynir süt esaslı olarak çok geniş flavoru, tekstürü ve formu ile işlenmektedir. Dünya perspektifinde 72 ülkeden 1832 peynir ilk akla gelen ürün portföyü olarak karşımıza çıkmaktadır (Anon, 2022b). Ülkemizde 98 çeşit peynir

geleneksel tabloda ön plana çıkmakta fakat akla gelen ilk ürünler beyaz, tulum ve kaşar peyniri öncelikli olarak üretim potansiyeli taşımaktadır (Akın ve Akın,2020). Bu peynirlerin dışında farklı yörelere ait geleneksel ve teknolojik işlemlere bağlı olarak 25 türe yakın yöresel peynir çeşidinin üretilmektedir. Ayrıca ülkemizde yüzlerce farklı yöresel peynirin de olduğu fakat tanınmadığı bilinmektedir. Çizelge 1.2’de çeşitli ülkelerde 2016-2020 yılları arasında peynir üretimi bin-ton eşdeğeri gösterilmiştir.

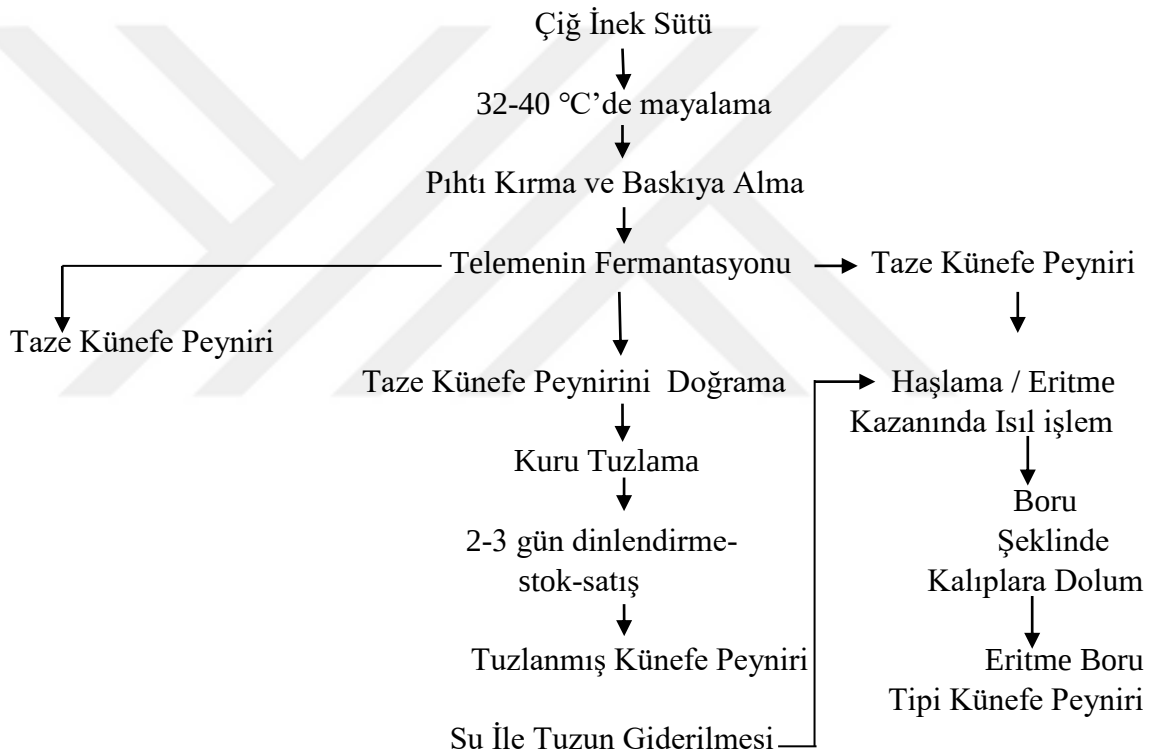
Çizelge 1.2. Çeşitli ülkelerde peynir üretimi 2016-2020 (Bin ton) (OECD, 2020)

Ülkeler	2016	2017	2018	2019	2020
ABD	5 331	5 357	5 395	5 466	5 517
Brezilya	745	760	778	796	814
Kanada	455	470	470	473	475
Şili	92	97	100	102	105
AB	10 028	10 256	10 551	10 670	10 780
Türkiye	657	690	756	700	767
Norveç	94	93	93	93	93
Rusya	630	640	649	658	670
Japonya	47	48	47	48	49
Hindistan	3	4	4	4	4
İran	296	297	301	302	307
Avustralya	344	355	352	361	369
Diğer	1 142	1 111	1 107	1 204	1 185
Dünya	22 880	23 180	23 713	24 025	24 324

Ülkemizde üretilen peynir çeşitlerinden biri de künefe peyniridir. Künefe peyniri T.C. Türk Patent Enstitüsü Coğrafi İşaret Tescil Belgesindeki tanımına göre yağı alınmamış tam yağlı ve hiçbir katkı maddesi içermeyen inek sütünün önce 40-50 °C’ye kadar ısıtılıp istenen sıcaklığa soğutulması sonrası ılık (30-40 °C) hale gelen süte peynir mayası (miktar-maya kuvvetine göre) katılarak fıçı, kazan, tekne gibi kalıplarda dinlenmeye bırakıldıktan sonra peynir suyunun iyice süzülmesi için bezlere sarılarak bekletilmesi sonucu oluşan peynir türüdür (Anonim, 2007).

Künefe Orta Doğu (Lübnan, Ürdün, Suriye vb) coğrafyasına ait olan, sınır şehri ve kültürel etkileşim ile Hatay’da yoğunluklu tercih edilen şıralı bir tatlıdır. Turizm ve tanıtım ile Türkiye’nin birçok bölgesinde de beğeniyle tüketilen ve tercih edilen bir tatlı haline gelmiştir. Tüketim ve künefe tatlısına olan talep künefelik peynirin üretiminde

artışa sebep olmaktadır. Künefe yapımında kullanılan künefe peyniri taze künefe peyniri, boru tipi künefe peyniri ve tuzlanmış künefe peyniri olmak üzere 3 şekilde üretilmektedir. Yapılan bilimsel çalışmalarda künefe peynirinin bileşen kompozisyonunun oldukça farklılık gösterdiği görülmektedir. Karaca ve ark. (2008) künefe peynirinin yapılış ve özellikleri üzerine yaptığı çalışmada, 22 adet künefe peyniri incelemiş analiz sonucunda ortalama değerler olarak; kurumadde oranı % 46.43, pH değeri 5.36, titrasyon asitliği % 0.628 laktik asit, yağ oranı % 24.12, kurumaddede yağ oranı % 51.88, tuz oranı % 0.24, kurumaddede tuz oranı % 0.53, protein oranı % 19.60, kurumaddede protein oranı % 42.29, kül oranı % 2.20 olduğu bildirilmiştir.



Şekil 1.1. Farklı (taze, tuzlu ve boru tipi) künefe peynirlerinin üretim şeması (Günay, 2019)

Künefe peynirinin çiğ süttan elde edilmesi, Tarım ve Orman Bakanlığınca verilen onay belgesi almış ve düzenli olarak denetlenen işletmeler dışında yöresel olarak evlerde, merdiven altı işletmelerde kayıtsız olarak da üretilmesi insan sağlığı açısından risk ve tehdit oluşturmaktadır.

Ülkemizde üretilen peynir çeşitlerinin hijyen ve sanitasyon koşullarını karşılamadığı ve patojen mikroorganizmalar açısından risk oluşturabileceği yapılan

araştırmalarda ortaya konmuştur (Şık ve ark., 2004).

Küçük ve Tapkı (2020)'nin Hatay İlinde Süt ve Süt Ürünleri Üreten İşletmelerin GZTF (Güçlü Yönler, Zayıf Yönler, Tehdit ve Fırsatlar) Analizi ile Değerlendirilmesi üzerine yaptığı araştırmada 56 işletmede bireysel olarak anket çalışması yapılmış olup anket sonucunda; Hatay'ın yöresel ürün çeşitliliğinin oluşu, bölge halkının süt ve süt ürünlerini fazla tüketmeleri, üreticilerle işletmeciler arası mesafenin fazla olmayışı gibi faktörler sektörün güçlü yönlerini oluştururken, eğitimsizlik, ürünlerin yeterince tanıtılmaması, süt ve süt ürünlerinin çabuk bozulması zayıf yönlerini oluşturmaktadır. Merdiven altı ve kayıt dışı üretim de çalışmadaki tehditler arasında yer almaktadır.

Ülkemizde peynirden kaynaklı meydana gelen gıda zehirlenmelerine sebep olan önemli patojenler *Listeria spp.*, *Brucella spp.*, *Shigella*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, Enteropatojenik *E. coli*'dir (Keskin ve ark., 2006). *Listeria spp.* arasında sadece *L. monocytogenes* insanlar için patojendir (Pintado ve ark., 2005). Çizelge 1. 1. Peynir, eritme peynirler ve eritme peynir ürünlerine ait mikrobiyolojik değerler verilmiştir. Son yüzyılda *L. monocytogenes* patojeninden kaynaklanan Listeriosis vakalarının artması sebebiyle *L. monocytogenes* gıda kaynaklı en önemli patojenlerden sayılmaktadır. Örneğin 1998-2012 yılları arasında ABD'de peynir kaynaklı 97 salgın meydana gelirken, bu salgına sebep olan patojenler arasında *Listeria monocytogenes* %12.3 oranla 3. sırada yer almaktadır (El Sayed ve ark., 2022).

Çizelge 1.3. Peynir, eritme peynirler ve eritme peynir ürünlerine ait mikrobiyolojik değerler (Anonim, 2011a)

Gıda	Mikroorganizmalar	Numune Alma Planı		Limitler	
		c	n	Min	Mak
Peynir (Eritme peynir hariç diğer tüm peynirler)	Koagülaz pozitif stafilokoklar	5	2	10 ²	10 ³
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g/mL	
	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g/mL	
Eritme Peynirler ve Eritme Peynir Ürünleri	Stafilokokal enterotoksinler	5	0	25 g'da bulunmamalı	
	<i>E.coli</i>	5	0	<10 ¹	
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g/mL	

Peynir için bir diğer tehdit Aflatoksin M1'dir. Besi hayvanının kontamine olmuş küflü yemle beslenmesi sonucu Aflatoksin B1'i vücuduna alarak karaciğerinde Aflatoksin M1'e dönüşmesi ve böylelikle hayvan sütüne geçmesi sonucu tüketilmesiyle insan sağlığını tehdit etmektedir. Ayrıca uygun olmayan koşullarda depolanmış süt ve süt ürünlerinde özellikle peynirde Aflatoksin M1 oluşabilmektedir.

Bu çalışmada; Hatay Künefe Peynirinde Aflatoksin M1 düzeyinin LC-MS/MS yöntemiyle tespit edilmesi ve *Listeria monocytogenes* varlığının araştırılması hedeflenmiştir.

1.1. *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes; gram pozitif, fakültatif anaerob mikroorganizmadır (McMullen ve Freitag, 2015). *Listeria monocytogenes* psikrotrofik, 1 ile 45 °C arasında değişen sıcaklıklarda büyüyebilmekle birlikte, yüksek tuz oranlarına dayanıklıdır. Ayrıca düşük pH seviyesinde büyümeyi başlatabilir (Sorrells ve ark., 1989; Farber ve Peterkin, 1991). Bu tip başlıca özellikler *Listeria*'nın gıdalardaki kontrolünü zorlaştırarak bu bakteri tarafından bulaşı olmuş gıdalar, insan sağlığı açısından potansiyel riske ve tehlikeye sebep olmaktadır (Bizani ve ark., 2008).

İlk zamanlarda *Corynebacteriaceae* familyası içinde verilen *Listeria*, "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition, Volume Three" kaynağının 2009 yayım referansı baz alınarak taksonomik olarak *Bacilli* sınıfı, *Bacillales* takımı, *Listeriaceae* familyasına yerleştirilmiştir. *L. monocytogenes*'in 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e 5,7,6a, 6b gibi değişik serotipleri bulunurken, bunlardan (1/2a, 1/2b, 4b) daha çok insan listeriozu ile ilişkilidir (Clark ve ark., 2010). *Listeria*; *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. ivanovii* ve *L. grayi* gibi 6 tür içerir. *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* ve *L. innocua* bu türler arasında patojen türlerdir. Hem insanlar hem de hayvanlar için en baskın ve etkili patojen *L. monocytogenes* 'tir. *Listeria*'lar doğada çok yaygındırlar bu sebeple yeme, süte ve ete kolaylıkla bulaşabilmektedirler (Farber, 1991).

Listeria'lar 0.5-2 mm uzunluğunda olup gram pozitif bakterilerdir. *Listeria*'lar 0 ile 45°C arasındaki sıcaklıklarda gelişebilen, minimum 0,92 su aktivitesine ihtiyaç duyan, pH istekleri 4,4 ile 9,4 arasında olup geniş pH aralıklarında canlılığını

koruyabilen bakterilerdir. *Listeria* spor oluşturmeyen gram pozitif fakültatif bir bakteridir (Rodrigues ve ark., 2017). *Listeria* hücreleri yuvarlak uçlu kısa ve kokobasil şeklindedir (Juntilla ve ark., 1988; Norrung, 2000; Yavuz ve Korukoğlu, 2010). Yüksek konsantrasyonlardaki NaCl (%10-12) varlığında bile çoğalabilen bu bakteriler halotoleranttırlar (Farber, 1991; Norrung, 2000; Yavuz ve Korukoğlu, 2010).

Listeria monocytogenes ilk olarak 1891 yılında Almanya’da tespit edilmiştir. 1926 yılında Murray ve ark.’nın Cambridge’deki in vitro laboratuvar tavşanlarında şüpheli bir hastalık tarif etmeleri ve hastalığın monositozla karakterize olması sebebiyle bakteriye *Bacterium monocytogenes* adı verilmiştir. Daha sonra bu bakteriye, bir cerrah olan Lord Lister’in anısına *Listerella hepatolytica* ve *Listerella hominis* gibi isimler verilmiş olup, en sonunda 1940 yılında Pirie tarafından *Listeria monocytogenes* adı verilmiştir. Optimum gelişme sıcaklığı 30-35 °C olup 0-45 °C gibi geniş bir aralıkta gelişebilmektedir. 30 °C altındaki inkübasyonlarda hareketli olmasına karşın 37 °C’de hareketsizdir. *L. monocytogenes* açısından en riskli gıdalar tüketime hazır ve soğukta uzun süre depolanmış gıdalardır. Bu bakteri buzdolabı sıcaklığında da çoğalabilmekte ve gıdalarda kullanılan pek çok koruyucu maddeden etkilenmemektedir. Bu sebeple kolaylıkla salgınlara neden olmaktadır. Hastalığa neden olan gıdalar arasında; süt ve süt ürünleri (fermente ya da çiğ süt), dondurma, sebze ve meyveler, fermente et ürünleri, çiğ veya pişmiş her çeşit et, çiğ veya tütsülenmiş balık, kabuklu deniz ürünleri, starter kullanılmadan üretilen taze peynirler, yumuşak peynirler, kanatlı ve hindi etleri, tüketime hazır yiyecekler, ısıtılmış işlem görmüş jambon, çeşitli sosis ve salamalar, lahana salatası ile çok geniş ve temel besinler içinde öncelikli gıdalar sayılabilir (Koçan ve Halkman, 2006).

1.1.1. Listeriosis

Listeria monocytogenes, insan ve hayvan için etiyolojik yani gerekçeli ajandır. *Listeria monocytogenes* 1980’li yılların başlarında listeriosise sebep olan gıda kaynaklı bir patojen olarak tanınmıştır (Rocourt ve Buchriese, 2007). Listeriosis, kontamine gıdaların yenmesi ya da kontamine suyun içilmesi ile ilişkili oldukça ölümcül bir enfeksiyondur.

Son otuz yılda gıda kaynaklı bir hastalık olarak listeriosis, çok sayıda listeriyoz salgınına sebep olmuştur. Amerika’da her yıl 500’ü ölümle sonuçlanan 2500 listeriosis

vakası görüldüğü bilinmektedir. Avrupa ülkelerinde rapor edilen yıllık listeriosis vakaları 0.3 ila 7.5 vaka/milyon kişi arasında değişmektedir. Başta peynir ve hazır yiyecekler olmak üzere süt ürünleri tüketimiyle birkaç salgının ilgili olduğu bilinmektedir (Melo, 2015).

Listeriosis, *L. monocytogenes* bakterisinin sebep olduğu ciddi bir enfeksiyondur. Tüm insanlar listeriosisten etkilenebilirken hamileler, yaşlılar, yeni doğanlar, kronik hastalıkları olanlar ve bağışıklığı düşük bireyler risk altındadır. Listeriosis gebe kadınlarda sadece grip benzeri belirtiler gösterse de erken doğuma ve yenidoğan bebekte ciddi enfeksiyonlara sebebiyet vermektedir. Hatta bazı durumlarda ölü doğum bile meydana gelebilmektedir (Pagotto ve Farber, 2002). Eğer listeria enfeksiyonu yenidoğan bebekte 7 günden sonra ortaya çıkıyorsa buna geç listeriosis denilmektedir. Geç başlangıçlı vakaların %94'ünde menenjit enfeksiyonu görülmektedir. Bu yaş grubunda *Streptokok*'tan sonra *Listeria* menenjite sebep olan bakteriler arasında 2.sıradadır. Bu yaş grubundaki menenjit diğer nedenlerle meydana gelen menenjitten ayırt edilememektedir. Bebekler çoğu zaman hastalık belirtilerini çok fazla göstermezler. Fakat menejit kaynaklı diyare ve sepsis meydana gelir (Botolussi ve Mailman, 2006). Bakterinin kuluçka döneminden sonra kontamine olmuş vücutta yüksek ateş, kas ağrısı, mide bağırsak problemleri gibi belirtiler görülür (Mačvanin, 2004). Bakterinin insanlarda sebep olduğu hastalıklar; deri lezyonları, meningitis, pneumoni, abseler, kalp hastalığı ve konjunktivitistir (Yavuz ve Korukoğlu, 2010).

İstatiksel veriler hastalığın daha çok sanayileşmiş, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde rapor edildiğini göstermektedir. Asya, Afrika ve Güney Amerika'dan gelen veriler azdır. Farklı beslenme alışkanlıkları, patojen bakterilerin daha baskın gelmesi, test analizlerinin yetersizliği ya da vakaların sistemli bir şekilde kayıt altına alınamaması bu kıtalardaki veri azlığının sebebi olarak düşünülmektedir. 2008 yılındaki verilere göre Avrupa'da 1 milyon kişi arasında 2 listeriosis vakası görülmekteyken son yıllarda Estonya, İtalya, İrlanda, Birleşik Krallık, Litvanya, Hollanda, Polonya, İsveç gibi ülkelerde listeriosis vakalarında artış gözlenmektedir. Kanada ve Amerika'da rapor edilen verilere göre vaka sayısı sırasıyla milyon başına 3 ve 4 kişidir. Listeriosis her türlü yaş grubu etkileyebilse de çoğu zaman (Vakaların %50 si) 65 yaş ve üstü kişilerde görülmektedir (Magalhães ve ark., 2014). İnsanda listeriosis vakaları ve ölümle sonuçlanan profil sayıları birçok ülkede artış göstermektedir. Küreselleşme ile birlikte

insanların gıda tüketiminde meydana gelen değişimler, yaşlanmayla birlikte oluşan duyarlı populasyon ve bağışıklık sistemini baskılayan diğer faktörler bu artışın sebepleri arasında gösterilmektedir (Matle ve ark., 2020). Epidemiyolojik çalışmalara göre listeriosis daha çok yüksek gelirli ve sanayileşmenin gelişmiş olduğu ülkelerde görülmektedir (Grace, 2015; Matle ve ark., 2020). Avrupa Birliğinin verilerine göre 2006 ve 2012 yılları arasında 18 üye devlette gerçekleşen listeriosis vaka sayısı 100.000 nüfusta 0.41 kişi olarak saptanmıştır (Matle ve ark.,2020).

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2015 yılı raporunda dünyada 600 milyon kişi gıda kaynaklı hastalıklar sebebiyle hastalanmakta ve çeşitli şikayetler ortaya konmaktadır. Güney Doğu Asya nüfusla değerlendirildiğinde gıda kaynaklı hastalıklarda 150 milyonda 175 bin enfeksiyonla birincidir. Afrika ise 91 milyonla ardından sıralanmaktadır. Avrupa Birliği ülkelerinde 2011 yılında 1516 olan listeriosis vakası 2015 yılında 2242'ye yükselmiştir (WHO,2015). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi raporlarına göre tüketime hazır gıdalar arasında balık (%10.4), et (%2.1) ve peynir (%0.5) en yüksek kontamine olan gıdalardır(EFSA,2013).

Kasalica ve ark.(2011) tarafından bildirildiğine göre Farber ve Peterkin (1991) tarafından yapılan çalışmada gıdada listeria varlığıyla oluşan listeriosis vakasıyla ilgili ilk rapor inek sütünden elde edilen süt ürünlerinde görülmüştür. Tüm süt ürünleri arasında yumuşak peynirler ve çiğ süttten elde edilen ürünler listeriosis en çok sebep olan gıdalardandır. Süt endüstrisinde *L. monocytogenes*'le ilgili bulaşların çoğu pastörizasyon sonrasını meydana geldiği Conly ve Johnston (2008) yılında yaptığı çalışmada bildirilmiştir. Yapılan mikrobiyolojik çalışmalarda Avrupa'da çiğ süt örneklerinin %2,5-6'sının *L. monocytogenes* ile kontamine olabileceği tespit edilmiştir. Kasalica ve ark.(2011) tarafından bildirildiğine göre Rudolf ve Siegfried(2001)'ın yaptığı çalışmada Avrupa'da kırmızı-kahverengi renkli smear türündeki peynirler araştırılmış ve örneklerin %15.6'sının *Listeria* cinsi ile kontamine olduğu, % 6.4'ünün de *L. monocytogenes*'la kontamine olduğu belirlenmiştir (Kasalica ve ark., 2011). Birçok çalışma *L. monocytogenes*'in birçok et ve et ürünlerinde var olduğu görülmüştür. Matle ve ark. (2020) tarafından bildirildiğine göre Vitas ve Garcia Jolan (2004) tarafından yapılan çalışmada İspanyada 55 küçük et işletmesinden toplanan 396 et örneği incelenmiş sığır ve domuz etinin % 34.9'unda *L. monocytogenes* bulunmuştur. Çizelge 1.4.'te dünya genelinde kaydedilmiş bazı listeriosis vakaları verilmiştir.

Çizelge 1.4. Dünya genelinde kaydedilmiş bazı listeriosis vakaları

Ülke	Yıl	Gıda	Vaka Sayısı	Ölüm Sayısı	Kaynak
California-ABD	1985	Meksika Tipi Peynir	142	48	(Anon,2022c)
İsviçre	1983-87	Yumuşak Peynir	122	34	(Melo ve ark., 2015)
İngiltere	1988	Pâté (Etli hamur işi)	355	94	(Anon,2022c)
Danimarka	1990	Küflü peynir	26	7	(Melo ve ark., 2015)
Fransa	1992	Jöleli domuz dili	279	85	(Anon,2022c)
ABD	1998- 1999	Sosisli sandviç ve şarküteri etleri	101	21	(Anon,2022c)
Almanya	2006	Yumuşak peynir	189	26	(Melo ve ark., 2015)
Norveç	2007	Camembert peyniri	17	3	Melo ve ark., 2015)
ABD	2012	Ricotta peyniri	22	4	Melo ve ark., 2015
Danimarka	2013- 2014	Baharatlı kuzu rulo, domuz eti, sosis, karaciğer pâté ve diğer et ürünleri	41	17	(Leong vd., 2016)
ABD	2015	Dondurma	10	3	(Leong vd., 2016)
ABD	2016	Paket Salata	19	1	CDC(Centers for Disease Control and Prevention),2022
ABD	2017	Yumuşak çiğ süt peyniri	8	2	CDC,2022
ABD	2018	Domuz ürünleri	4	-	CDC,2022
Güney Afrika	2018	İşlenmiş et ürünü	978	183	World Health Organization (WHO).2018.
ABD	2019	Dilimlenmiş şarküteri ürünleri	10	1	CDC,2022
ABD	2021	Pişmiş Tavuk	3	1	CDC,2022

Yine Matle ve ark. (2020) tarafından bildirildiğine göre Todd ve Notermans (2011) tarafından yapılan bir çalışmada ABD’de 100.000 nüfus başına listeriosis oranı 0.3 vaka olarak raporlanmıştır. Aynı çalışmada ABD’de yılda 1600 kişinin listeriosis hastalığına yakalandığını bu hastaların %20 sinin ölümle sonuçlandığı kayıtlara geçirilmiştir (Matle ve ark., 2020).

Güncel olarak Fransa’da hükümet sitesi Rappel Consa, Graindorge marka peynir mandırasından elde edilen 6 çeşit peynir türünün Listeriosis’ten sorumlu peynir

bakterisi bulundurma ihtimaline karşı ulusal bir geri çağırma kampanyasını 05.04.2022 tarihinde başlatıldığını duyurmuştur. Fransa’da listeriosis salgını yılda birkaç yüz vaka ile nadir olarak görülmektedir (Anonymous, 2022d).

Hayvanlarda listeriosis ise genellikle yetişkin ruminantlarda görülürken nadiren de olsa yetişkin domuzlarda da görüldüğü bilinmektedir. Bu bakteriye en duyarlı hayvanlar koyun ve keçilerdir. *Listeria monocytogenes*’in sebep olduğu ölüm oranları koyunlarda %70 iken, sığırlarda %50’ye kadar çıkabilmektedir(Anonim,2022e).



Şekil 1.2. *Listeria monocytogenes*’in Mikroskopik Görüntüsü (Anonymous, 2022f)

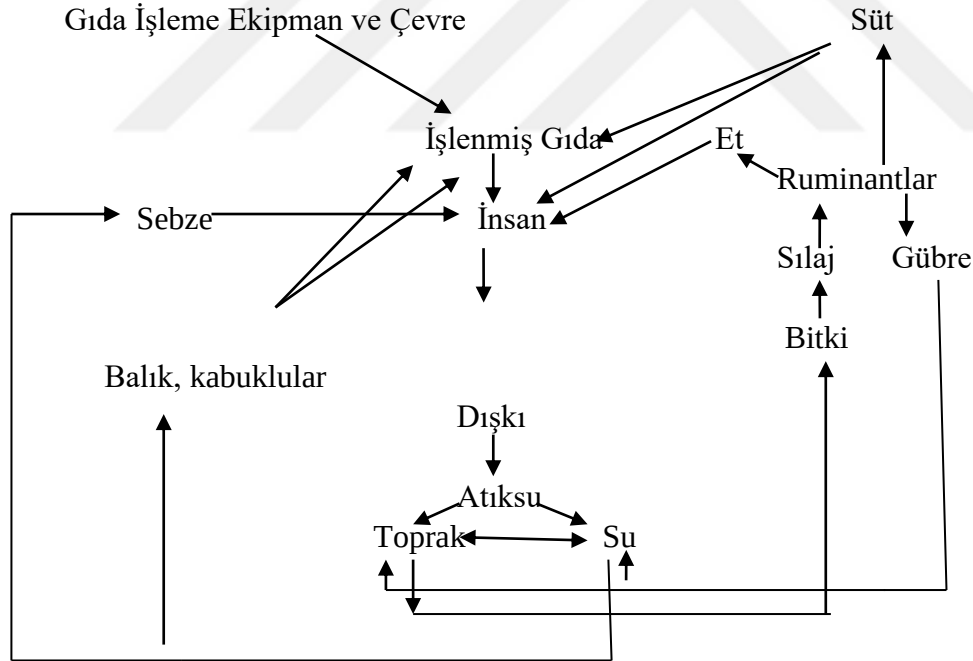
1.1.2. *Listeria monocytogenes* Kaynağı ve Yayılması

L. monocytogenes; su, lağım suyu, inek sütü, insan ve hayvan dışkısı gibi çok yerde bulunabilmektedir(Farber ve Peterkin, 1991). *Listeria* bulaşı olmuş hayvandan toprağa ve yeme geçer buradan tekrar et ve süt hayvanlarına geçmesiyle bir döngü oluşturmaktadır(Arda ve ark., 1999; Roche ve ark., 2009). Özellikle çiğ süt önemli bir *listeria* kaynağıdır. Çiğ süttten elde edilen peynirler (taze ve olgunlaştırılmamış), çiğ meyve ve sebzeler, çiğ ya da az pişmiş etler de *listeria* kaynağıdır (Martin ve Fisher, 1999).

L. monocytogenes rezervuar olarak toprakta, suda, dışkıda, çevrede her yerde bulunabilir. Bu bakteri insan vücudunda bağırsak, rahim ve beyin gibi organlara yerleşerek ciddi enfeksiyonlara sebep olabilirler. *Listeria monocytogenes* yüksek sıcaklıklarda bile canlılığını devam ettirebildiği ayrıca buzdolabı sıcaklığında

hayatietini devam ettirebildiği bilinmektedir. Isıl işlem uygulaması ile *Listeria* yok edilebilirken bazı *listeria* türlerine ve bulaştığı gıdaya göre farklılıklar gösterebilmektedir (Sergelidis ve Abraham, 2009; Huang, 2009; Yavuz ve Korukoğlu, 2010). *Listeria*'nın 4.1 pH derecesinde bile canlılığı sürdürerek çoğalması insan midesinde de canlılığını koruyabileceğini göstermektedir (Cotter ve ark., 2000; McLauchlin ve ark., 2004 ;Yavuz ve Korukoğlu, 2010). *Listeria*'nın gıdalara bulaşmasında önemli kaynaklardan biri de süttür. Gerek yurtdışında gerek yurtiçinde süt ve süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'le ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü *L. monocytogenes*'in insan sağlığı açısından risk oluşturmayacak düzeye inmesi için çiğ süütün 71.7 °C'de 15 saniye pastörize edilmesi gerektiğini bildirmesine rağmen nadir de olsa bu bakterinin canlı kalabileceği bildirilmiştir (Lovett ve ark., 1990; Yavuz ve Korukoğlu, 2010).

Listeria monocytogenes'in bulaşı durumları ve çapraz etkileri Şekil 1.2'de verilmiştir.



Şekil 1.3. *Listeria monocytogenes* Bulaşı Karakteristikleri (Erol,2007).

Listeria monocytogenes hayvanlara kontamine olmuş yem ve sulardan enfekte olup, hayvandan hayvana oral ya da dışkı yoluyla da bulaşmaktadır.

1.1.3. *Listeria* Türlerinin İzolasyonu

Geliştirilen yeni metotlar sayesinde *Listeria* bakterilerinin izolasyonu kolaylaşmıştır. *Listeria monocytogenes*'in aranmasında ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif izolasyon ve doğrulama olmak üzere 4 adım izlenir. Yapılan klinik çalışmalarda *Listeria*'yı gıdalardan izole etmeye yönelik ilk girişim kanlı agar üzerine doğrudan kaplama ile denenmiş ve başarısız olunmuştur. *Listeria*'nın düşük sıcaklıklarda da gelişebilme özelliğinden faydalanılmış 4 °C de uzun süre inkübasyonla görünür koloniler elde edilmiştir. Bu yöntem birkaç hafta sürmekte ve stres altındayken büyüüp gelişemeyen zarar görmüş *Listeria* türlerinin izolasyonuna izin vermez (Gasonov ve ark. 2005).

Daha sonra seçici kültürlerin zenginleştirildiği çalışmalarda, antikor ve moleküler temelli tespit yöntemlerindeki teknolojilerde yeni gelişmeler yaşanmasıyla *Listeria* izolasyonu kolaylaşmıştır.

1.1.3.1 FDA(Food and Drug Administration) BAM (Bacteriological Analytical Manual) ve ISO(International Organization for Standardization) 11290

Bu yöntemde *Listeria* 35°C derece 48 saat zenginleştirilir ve ardından Oxford, PALCAM, MOX gibi selektif *Listeria* agara ekim yapılır.

ISO 11290 da ise 2 aşamalı zenginleştirme yapılır. Önce gıda numunesi Half Fraser Brothta 24 saat ön zenginleştirme yapılır. İkinci aşamada da tam Fraser Broth (FB) kullanılır. FB ajanlardan seçici acrifilavin ve nalidixic asit yanı sıra β -D-glukozidaz aktivitesini ölçmek için eskülin de içerir. FB'de 37°C de (36-48 saat) inkübasyon yapılarak Oxford ya da PALCAM agara geçilir (Gasonov ve ark., 2005).

1.1.3.2 USDA (United States Department of Agriculture)/FSIS (Food Safety Information System) ve AOAC (Association of Official Analytical Chemists)/IDF (International Dairy Federation)

USDA genelde yumurta, et ve çevresel izolasyonlarda kullanılmaktadır. Et ve tavuk örnekleri için 25g/ml gıda örneği 225 ml University of Velmon (UVM) 1 broth

besi yerinde homojenize edilerek 30°C’de 48 saat inkübe edilir. İkinci adımda ilk inkubasyondan alınan örnek UVM II Broth besisi yerine 30°C’de 24 saat inkübe edilir ve LPM agar besisi yerine sürülür. Son adımda 30°C’de 24 saat inkübe sonucu elde edilen kolonilerden en az 5 tanesi TSA-YA besisi yerine sürülür burada da 35°C’de 24 saat sürede inkübasyon sonucu oluşan koloniler son aşama olarak tanımlama amaçlı testlere tabi tutulur.

AOAC/IDF metodu ise süt ve süt ürünlerinden *Listeria* izolasyonunda kullanılır. LEB besiyerinde (Acrifilavin ve nalidixic asit içerir) 36-48 saat 30°C de inkübe edilir ve ardından Oxford agara sürülür (Gasonov ve ark., 2005).

1.1.3.3 Hızlı Yöntemler

İmmunamanyetik Arama; 1990’lı yılların başlarında geliştirilen bu yöntemle aranılan mikroorganizma hücreleri manyetik taşıyıcılarda bulunan antikorlara tutunmaktadır. Bu yöntemle gıdalarda *L. monocytogenes* aranması için ilk aşamada ön zenginleştirme yapılarak oluşan kültür antikorları içeren süspansiyonla karıştırılır ve manyetik uygulama işlemi ile ayırım sağlanır (Anonim,2022g).

Clearwiev Hızlı Test Kiti; bu kitle *Listeria* antijenleri arasında en yaygın olarak bulunan B antijeninin varlığının tespiti amaçlanır. İki aşamalı ve ortalama 43 saat süren bir testtir. İlk aşamada yapılan zenginleştirmeden sonra oluşan kültür 80 °C’de ısıtılır daha sonra oluşan antijen ekstraktı uniteye damlatılır ve antikorlarla antijenler tepkimeye girer ve mavi renkli çizgiler oluşturur. Bu da *Listeria*’nın pozitif olduğunu işaret eder (Anonim,2022g).

1.1.4. Kontaminasyon Riskini Azaltacak Önlemler

Gıda kaynaklı patojenler arasında *L. monocytogenes* en yüksek ölüm oranına sahip patojendir ve her yıl yaklaşık 200 milyon dolar ekonomik kayıp oluşturduğu bilinmektedir (Luksiene ve Paskeviciute, 2011). Buchanan ve ark.(2017)’a göre *L. monocytogenes*’in gıda tesislerinde proses esnasında birçok yolla kontamine olabilmesi ve bakterinin kalıcılığı sebebiyle bu bakterinin tamamen yok olması neredeyse imkansızdır. Bundan dolayı etkili sanitasyon ve temizlik sağlanarak, kullanılan

ekipman, personel ve çevre hijyenine dikkat edilmeli, personele gerekli eğitimler verilmeli böylece gıdalara bulaşma ihtimali düşürebilmektedir (Altuntaş ve Korukluoğlu, 2017).

L. monocytogenes çoğunlukla hayvansal gıdalar ve çiğ sebzelerde bulunmaktadır. Bu sebeple yapılacak ilk işlemler arasında ham madde ve malzeme kontrolü gelmektedir. Gıda işletmesine girecek olan her türlü hammadde ve malzemenin dış ambalajı işletmeye girmeden çıkarılmalı, hammadde temin edilen işletmeler düzenli olarak denetlenmeli, kullanılan hammaddelerin ve yardımcı ürünlerin belli aralıklarla *L. monocytogenes* analizleri yapılmalı böylelikle işletmeye taşınması azaltılabilmektedir (Anonymous, 2016). Ayrıca kontamine olmuş gıdalarda özellikle süt ve süt ürünlerinde gelişimini engellemek için süt yeterli normlarda (sıcaklık-süre) pastörize edilmeli ve pastörizasyon sırasında bulaşmanın olmaması için tedbirler alınmalıdır. Kanatlı etlerin iç sıcaklığına dikkat edilmeli en az 72°C olması sağlanmalıdır (Yavuz ve Korukoğlu, 2010). Çiğ tüketilen meyve ve sebze gibi gıdalar iyice yıkanmalı, çiğ etler başka gıdalara temas etmeyecek şekilde muhafaza edilmeli, çiğ et ve çiğ gıdalara temas eden malzeme ve yardımcı araçlar dezenfekte edilmelidir. Gıda işleme tesisinin konumu, haşare ve kemirgen girişinin önlenmesi, işletmenin tasarım ve yapısının temizliği engellemeyecek ve nem tutmayacak şekilde tasarlanması gerekmektedir. İşletme çevresinde uygun drenaj sistemi ve aydınlatma olmalıdır. Gıdaya temas eden ekipmanların yüzeyi pürüzsüz olmalı, ekipmanlarda çatlak, aşınma, uygun olmayan kaynak işleri yapılmamalıdır. Çapraz bulaşmanın önlenmesi için işletmelerde düşük ve yüksek riskli alanlar bölgelendirilmeli, çapraz bulaşmayı önlemek için çiğ, pişmiş ve tüketime hazır gıdalar aynı alanda bulundurulmamalıdır. Gıda işleme tesislerinde çalışan personellerin hijyen eğitimini alması, çapraz bulaşmaya sebep olabilecek ihmallerin (el, vucut temizliği, kıyafet temizliği vb.) ortadan kaldırılması gerekmektedir. Ayrıca işletme düzenli olarak temizlenip dezenfekte edilmeli ve bu işlem düzenli olarak belli bir periyot ve programa bağlı planlanmalıdır (Altuntaş ve Korukluoğlu, 2017).

1.2. Mikotoksinler

Mikotoksin küfler tarafından ikincil bileşik olarak üretilen ve bir bakıma mikroorganizmaların savunma mekanizması olan toksik maddelerdir. Mikotoksin kelimesi Yunanca da küf anlamına gelen "mykes" ve Latince toksik anlamına gelen "toxicum" kelimelerinin bir araya gelmesiyle oluşturulmuştur (Richard, 2007). Mikotoksinlerin alımı ile insan ve hayvanların sağlığında meydana gelen olumsuzluklara mikotoksikozis denilmektedir (Öksüztepe ve Erkan, 2016). Bilinen ilk mikotoksikozis vakası M.Ö. 600 yılında *Claviceps purpurea* (çavdar mahmuzu) bulaşmış tahılların tüketilmesi sonucu ergotizm oluşmasıdır. Sparta'da ilk toplu zehirlenimin M.Ö. 400 yılında olduğu bilinmektedir. Ergotizmin sebep olduğu hastalığa Aziz Antonius (Holy Fire) denilmiştir. Doğu Avrupa'da saman hastalığı olarak bilinen mikotoksikozis olayda atların küflü yem tüketmesiyle öldüğü bilinmektedir. 1960'lı yıllara kadar tarımsal ürünlerin küflenmesiyle oluşan ekonomik kayıplar olarak mikotoksinlerden bahsedilirken, 1960 sonrası canlıların sağlığında yarattığı olumsuz etkileri üzerine durulmaya başlanmıştır (ICMSF,1996). 1960 yıllarında kümes hayvanlarında toplu ölümler görülmüş ve daha sonra mikotoksinlerin insanlarda da ölüme sebep olduğu anlaşılmıştır. 1974 yılında Hindistan'da meydana gelen akut mikotoksin zehirlenmesinde 400 kişi etkilenmiş ve 106 kişi hayatını kaybetmiştir (Van Rensburg ve ark.,1974; Heperkan ,2014).

Taze tüketilen meyve ve sebzelerde mikotoksin varlığı nadir olarak görülürken, hasatla birlikte başlayan uygun olmayan koşullar (kurutma, işleme vb.) üründe bulunan küfün mikotoksin oluşturmalarını tetiklemektedir. Kısaca tarladan sofraya kadar geçen süreçte mikotoksinler uygun olmayan koşullarda pek çok üründe oluşabilir (Heperkan, 2014). Süt ürünlerine mikotoksin bulaşması iki yoldan gerçekleşmektedir. İlki süt ürünü elde edilen hayvanlar tarafından küflü yemlerin tüketilmesi, ikincisi süt ürününün küfle kontamine olması sonucu mikotoksin meydana gelmesidir (Kırdar, 2006).

Mikotoksinler kimyasal yapı açısından çeşitlilik göstermekle birlikte benzer yapılara sahip mikotoksinler aynı grup içinde yer almaktadır. Mikotoksinler arasından en önemlilerinden birisi aflatoksindir. Aflatoksinler akut ve kronik hastalıklara yol açarak doğrudan hastalığa sebep olurlar (Heperkan, 2014). *Aspergillus flavus* veya *Aspergillus parasiticus* küflerinin ürettiği toksik metabolitlere aflatoksin denilmektedir.

En önemli kanserojen etki gösteren aflatoksinlerden biri Aflatoksin B1'dir. Aflatoksin M1 hücreleri tahrip edici özelliğe sahiptir ve Aflatoksin B1 gibi az miktarlarda uzun süre beslenmeyle vücuda alındığında kronik rahatsızlıklara yol açabilmektedir (Prandini ve ark., 2009).

Küfün oluşması ve gelişmesini etkileyen iç faktörler; ürünün nem oranı, redoks potansiyeli, pH'sı, ozmotik basıncı ve bünyesinde doğal olarak bulundurduğu antimikroyel bileşikler olarak sıralanabilir (Heperkan, 2014). Tarımsal ürünler ve gıdalar için önemli bulaşı olan küfler, çeşitli çevre koşullarına dayaklıdırlar özellikle düşük su aktivesinde(0.90-0.80) çalışabilmektedirler (Duman,2001). Dış faktörler ise; sıcaklık, nem, kuraklık vb. gibi iklim koşullarıdır. Ayrıca ürüne uygulanan kurutma, kavurma, haşlama gibi prosesler de mikotoksin oluşumunda etkilidir (Heperkan, 2014). Ürünün fiziksel olarak zedelenmesi de örneğin kabuklu fındıkta meydana gelen tahribat sonucu mikotoksin oluşumunu etkilemektedir (Heperkan, 2005).

1.2.1. Mikotoksinlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Canlılar daha çok yiyecek, içecek tüketimiyle mikotoksine maruz kalmaktadır. 400'e yakın mikotoksin bulunduğu bilinmektedir. Gıdalara bulaşma miktarı ve mikotoksinin çeşidine bağlı olarak insanlarda akut veya kronik hastalıklara sebep olmaktadır. Fakat mikotoksinlerin insan sağlığına olumsuz etkileri üzerine çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Deneysel çalışmalarla sağlık üzerine olumsuz etkileri kesinleşmiş mikotoksinler; aflatoksinler, OTA (Okratoksin A), patulin, zearalenon, DON (Deoksinivalenol), fumonisindir. Bu mikotoksinlerin her birinin sağlığa olan etkileri ayrıdır. Uluslar Arası Kanser Araştırma Ajansının (ICRA) verilerine göre Aflatoksin B1 grup 1 karsinojen mikotoksin olarak belirtilirken, aflatoksin M1 ve fumonisin olası kanser yapıcı bileşikler olarak bildirilmiştir (Heperkan,2014).

Çin, İtalya ve Güney Afrika gibi ülkelerden alınan verilerde Fumonisin (FB1) insanlarda yemek borusu kanserine sebebiyet verebileceği anlaşılmıştır (Heperkan ,2006). Okratoksin A mikotoksinin de en fazla böbrekleri etkileyerek bağışıklık sistemine zarar verdiği bilinmektedir (Benford ve ark., 2001;Heperkan, 2006). 2004 yılında Kenya' da meydana gelen akut hepatoksisite salgınında ,insanların aflatoksinle kontamine olmuş mısır tükettiği bilinmektedir (Gong ve ark., 2002). Dünyanın farklı

bölgelerinden edinilen bilgiler doğrultusunda fumonisin(FB1) insanlarda yemek borusu kanserine sebep olabileceği sonucuna varılmıştır (CAST,2003). Her mikotoksinin vucuda girdikten sonra etkilediği organ farklılık gösterir. Çizelge 1.5’te bazı mikotoksinlerin etkilediği organ ve sistemler gösterilmiştir.

Mikotoksinlerin sağlık üzerine olumsuz etkileri Heperkan (2014) tarafından aşağıdaki gibi sıralamıştır;

- Akut veya kronik hastalıkları teşvik ederler
- Bağışıklığı sistemini azaltarak diğer hastalıklara karşı direnci azaltırlar
- Ani toplu zehirlenmelere ve ölümlere aracılık ederler
- Toksinine özgü hastalıkların oluşumunu beslerler
- Yumuşak dokular-organlarda hasar, vücutta tümör oluşumu ve doğum anomaliklerine ortam hazırlarlar
- Beslemeye dayalı olarak çiftlik hayvanlarında et-süt kalitesinde düşüş, yumurta veriminde azalma, damızlık hayvanlarda genetik problemler oluştururlar.

Çizelge 1.5. Bazı mikotoksinlerin etkileri ve sebep oldukları hastalıklar (Girgin ve ark., 2001)

Mikotoksin	Üreten Cins	Oluşturduğu Etki	Neden olduğu Hastalıklar
Aflatoksin B1	<i>Aspergillus</i>	Karsinojenite Teratojenite	İnsanda primer karaciğer kanseri Turkey-X disease
Fumonisin B1	<i>Fusarium</i>	Karsinojenite Nörotoksisite	Atlarda Ensefalomalazi Domuzlarda Pulmoner Ödem
Okratoksin A	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>	Karsinojenite	Domuzlarda ve Kümes Hayvanlarında Nefropati
Sitrinin	<i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i>	Nefrotoksisite	...
Trikotesenler (T-2 toksin)	<i>Fusarium</i>	Dermatoksisite Hematopoetik Etki	Alimentary toxic aleukia (ATA)
Zearalenon	<i>Fusarium</i>	Östrojenizm Üreme Bozuklukları	Domuzlarda hiperöstrojenizm, Vulvovajinit ve düşükler
Fomopsin A	<i>Phomopsis</i>	Hepatotoksisite	Koyunlarda lupinozis

1.2.2. Mikotoksinlerle Mücadele Yöntemleri

Küfler ve mikotoksinler bitkisel ürünlerde ve çiftlik hayvanlarında bulunması sebebiyle ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Bulaşık yemlerle beslenen hayvanların bağışıklık sistemleri baskılanmakta, büyüme hızı düşmekte ve ölümle sonuçlanabilmektedir (Heperkan, 2014). Dünyada tarımsal ürünlerin en az %25 bazı durumlarda % 30-40'nın mikotoksinlerle bulaşık durumda olduğu FAO verilerinde bildirilmiştir (CAST, 2003).

evre sıcaklığı, çevrenin nemi ve gıda maddesinin nem miktarı mikotoksin oluşumunu etkileyen bazı fiziksel faktörler arasındadır (ksztepe ve Erkan, 2016). rne uygulanan çeşitli prosesler de dikkate alınmalıdır. Örneğin ürüne uygulanan haşlama, kurutma, kavurma vb. gibi prosesler de mikotoksin oluşumunu ve miktarını etkilemektedir (Heperkan, 2014). Kabuklu fındık ve mısırla yapılan çalışmalarda, üründe meydana gelen fiziksel hasarların mikotoksin oluşumunu tetiklediği kanıtlanmıştır (Heperkan, 2006). Mikotoksin üreten küflerin kimyasal bileşimi (gıdanın bileşimi, gıdadaki su miktarı, gıdanın pH değerı) kf gelişimi ve toksin oluşumunu etkileyen en önemli kimyasal parametrelerdendir.

Gıdalarda mikotoksin hasat öncesi ve sonrası oluşabilmektedir. Ancak hasat öncesi oluşan mikotoksinlerin önlenmesi ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır. rnlerde kf gelişerek mikotoksin oluşumunu engellemek için hasat öncesinden ürünün yetişeceği toprağın ürüne uygun olması, böcek ve zararlılara karşı dayanıklı ürünler seçilmesi, doğru sulama ve gübreleme yapılması gerekmektedir. Bu nlemler ürünlerdeki kf gelişimini azaltarak sağlıklı olmasına yardımcı olabilmektedir. Hasat esnasında kullanılan hasat makineleri ürünün bütünlüğüne zarar vermemeli, hasattan sonra yüksek nemli ürünlerde kurutma yapılarak nem oranı düşürülmeli ve ürün harmanlarda uzun süre bekletilmemelidir. Uygun olmayan depolama koşulları mikotoksinlerin gelişip hızla kf oluşturmasında etkilidir. rnlerin depolanacağı siloların düzenli ilaçlanması, ürünlerin yere ve duvara direkt temasta bulunmaması, ortam sıcaklığının 18 dereceden düşük olması ürünlerin yerle temasını önlemek için tahta ızgaralar kullanılması depolama sırasında alınacak önlemlerdendir. Taşıma konusu mikotoksin oluşumunun önlenmesi açısından en az üzerinde durulan maddedir. rnlerin taşınacağı aracın mantar ve kfe karşı düzenli olarak ilalanıyor olması, araçların zemin ve duvarlarının

kuru olması, ıslanma riskine karşı araçların kapalı olması küf oluşumuna karşı önemli önlemlerdir(Oğuz, 2017).

Karlovsy ve ark. (2006)'nın bildirdiğine göre gıda ve yemdeki aflatoksin miktarını azaltmanın, sınırlandırmanın en uygun yolu İyi Tarım Uygulamaları (GAP)'nı uygulamaktır. Fakat bu uygulamayla kesin bir önleme sonucuna varılamamaktadır. Hasat öncesi ve sonrası uygulanabilecek bazı yenilikçi çözümler bulunmaktadır. Bunlardan bazıları ozon fumigasyonu, kimyasal ajanlar, biyolojik ışınlamadır (Tonbak ve Demir, 2021).

Mikotoksinler ürünlere hasat öncesi bulaşıp geliyorsa buna doğal mikotoksin oluşumu denir ve bu mikotoksinler önlenmesi güç tehlikeler olarak tanımlanır. Mikotoksinleri önleme ve kontrol etme çalışmalarında seçilecek yöntemlerin teknik ve ekonomik açıdan uygun olmasına, üründe herhangi bir besin kaybı yaratmamasına ve ürünlerde zararlı kalıntılar bırakmamasına dikkat edilmelidir (Heperkan, 2006).

1.2.2.1 Mikotoksinlerin Toksik Olmayan Küf Suşları ile Kontrolü

Bu yöntem özellikle hasat öncesi küf gelişiminin yaygın olduğu mısır, pamuk, yer fıstığı gibi ürünlerde uygulanmaktadır. Uygulamada *Aspergillus parasiticus* suşu toprağa ilave edilir. Bu suş toksik üretmemekle birlikte toksik üreten küfle(*A. flavus* / *parasiticus*) rekabet eder ve hakimiyet kurarak küf üretmesini engeller. *Aspergillus niger* de benzer şekilde toksik değildir eklendiği besi yerinde Okratoksin A'yı parçalar (Heperkan, 2006).

1.2.2.2 Mikotoksinlerin Mikroorganizmalar ile Uzaklaştırılması

Bu yöntemde bakteri, maya, küf, protozoa kullanılarak mikotoksin uzaklaştırılması hedeflenmektedir. Ürünün asidik bazik karakterde oluşu, mikotoksin türü, mikooorganizma konsantrasyonu bu yöntemi uygulamada etkilidir.

Flavobacterium aurantiacum aflatoksini uzaklaştıran bir organizmadır. Mısır, mısır yağı, yer fıstığı kreması gibi ürünlerde bulunan aflatoksin B1'i parçalayabildiği bilinmektedir. Bu bakteri aflatoksin B1'i metabolik ürünlere ve CO₂'e parçalayabilmektedir. Mücadele yönteminde kullanılan bir diğer mikroorganizma

Lactobacillus rhamnosus GG'nin zearalenon (ZEN) ve aflatoksin B1'i çözeltiden uzaklaştırmaktadır. Bu bakterinin aflatoksin B1'i bağlaması hücre duvarında bulunan peptidoglikan, veya peptidoglikana kovalent bağlı unsurlar ile fiziksel olarak sağlanmaktadır. Bazı memelilerin (koyun, keçi, inek) sindirim sisteminde bulunan mikrofloranın da Okratoksin A'yı parçalayabileceğine dair çalışmalar mevcuttur. Mayalar arasında *Saccharomyces cerevisiae*'nın ortamdan mikotoksinleri uzaklaştırdığı bilinmektedir. Bazı bağlayıcı ajanlar örneğin Kalsiyum montmorillonite kili (HSCAS) yemlere ilave edilerek aflatoksin B1 bağlanabilmektedir (Heperkan, 2006).

1.2.3. Mikotoksinleri Tanı Yöntemleri

Mikotoksin analizinde TLC (İnce Tabaka Kromatografisi), HPLC(Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi), GC (Gaz Kromatografisi), ELİSA (Bağlanmış İmmunoabsorbant Yöntemi) , İmmünoteknik yöntemler ve LC-MS/MS (Kütle Spektrofotometresi) yöntemleri kullanılmaktadır.

1.2.3.1 TLC (İnce Tabaka Kromatografisi) Yöntemi

İnce tabaka kromatografisidir , ilk olarak de Long ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır.TLC yönteminde cam plaka üzerinde homojen olarak yayılan ince bir tabaka bulunur ve bu ince tabaka için genellikle selüloz ve türevleri, silikajel, poliamid, nişasta, alüminyum oksit gibi organik ve inorganik bileşikler kullanılır. Hareketli faz içinse aseton ve metanol kullanılmaktadır (Oruç, 2006). Aflatoksin analizlerinde kullanılan en yaygın ayırma yöntemlerden biridir. TLC yönteminin en büyük avantajı bir test örneğinde farklı türdeki mikotoksinlerin tespit edilebilmesidir (Wacoo ve ark., 2014).

1.2.3.2 HPLC (Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi) Yöntemi

HPLC mikotoksinleri ayırmada kullanılan en popüler yöntemdir. Dünyadaki organik bileşiklerin yaklaşık %80'ni bu yöntem kullanılarak belirlenir. HPLC 'de

metanol, etanol, etil asetat su gibi solventlerin kullanıldığı hareketli bir sıvı faz ve silisyum dioksit, alimünyum oksit, iyon değiştirici polimerler gibi maddelerin kullanıldığı sabit bir katı faz bulunur (Soransen ve Elbaek 2005; Oruç 2006). HPLC yönteminin prensibinde sıvı içinde çözünmüş bileşenlerin sabit faz ile etkileşime girerek farklı hızlarla farklı zamanlarda kolondan ayrılmasına dayanmaktadır.

HPLC cihazının hassasiyeti yüksektir bu yüzden örneklere çok iyi ekstrat temizleme işlemi yapılmalıdır. Ayrıca tek seferde yalnızca bir örnek analiz edilebilmektedir bu da zaman kaybına sebep olmaktadır(Var ve ark., 2004).

1.2.3.3 Gaz Kromatografisi (GC)

Hareketli faz gazdan (hidrojen, helyum ve azot), sabit faz ise katı veya sıvıdan oluşmaktadır. Gaz katı kromatografisi ve gaz sıvı kromatografisi olmak üzere iki tür gaz kromatografisi vardır. Gaz-sıvı kromatografisi daha çok kullanılmaktadır. Çoğu mikotoksin uçucu olmadığından gaz kromatografisi için türevlendirilmesi gerekmektedir. Mikotoksinlerden uçucu madde elde etmek için sililasyon veya polifloroasilasyon gibi kimyasal teknikler kullanılır.HPLC gibi daha ucuz ve hızlı tekniklerin varlığından dolayı ticari amaçlı kullanımda gaz kromatografisi pek tercih edilmemektedir (Turner ve ark., 2009).

1.2.3.4 ELİSA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

Mikotoksin analizinde kullanılan diğer yaygın yöntem ELİSA yöntemidir. Bu yöntemin ana prensibi antijen antikor esasına dayanmaktadır. Mikotoksinlerin antijenik özellik göstermesi için protein olarak genellikle serum albümini gamma globulin ve polyisine kullanılmaktadır.

Aflatoksin M1 analizinde aflatoksin M1 içeren solüsyonlar kuyucuklara ilave edilerek aflatoksin M1 konsantrasyonuna bağlı sitelerin bir kısmı tutulur. Geride kalan tutulmayan setler sonraki aşamada enzim konjugat tarafından tutulur. Bu enzim konjugatlar yıkanarak bağlanmamış setler uzaklaştırılır.Daha sonra kuyucuklara substrat ve kromojen ilave edilerek, kromojenin bağlı enzim konjugatı mavi renge dönüştürülmesi beklenir.Son olarak sülfirik asit solisyonu ilave edilerek reaksiyon

durdurularak mavi renk sarıya dönüşür. Neticede okunan absorbanans değeri ile aflatoksin M1 değeri ters orantılıdır (Eroğlu, 2011).

1.2.3.5 İmmünoteknik Yöntemler

Son zamanlarda immünotekniklerden biyosensörlerin kullanımı artmaktadır. Bu uygulamada da toksin ürünlerin seçiminde ve ayrılmasında antikorlar kullanılmaktadır (Hacıbekiroğlu, 2013). Gaug ve arkadaşlarının biyosensörlerle yaptığı bir çalışmada, çoklu mikotoksin aranmasının biyosensörlerde bulunan tekrarlanabilme ve üretilebilme özelliklerinden dolayı ELİSA ve HPLC yöntemine göre daha iyi olduğu bildirilmiştir. Wu ve ark. (2016) aflatoksin M1 için var yok testi geliştirmişler fakat bu yöntem doğrulama ve validasyon konusunda istatistiksel olarak yetersiz kalmıştır. Campone ve ark. (2016) sütte bulunan aflatoksin M1 için etkili clean up ve ekstraksiyon işlemleri olma kaydıyla LC-MS/MS analizlerinin uygulanabileceğini bildirmiştir (Açı ve Ocak, 2019).

1.2.3.6 LC-MS/MS Yöntemi (Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi)

Mikotoksinlerin analizinde bu yöntem sık olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde aflatoksin ölçüm değerini düşürerek, ön plana çıkarır. LC-MS/MS yönteminde analize alınan örnekler UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) cihazı ile fizikokimyasal özelliklere ayrılarak, moleküller kütle dedektörü ile analiz edilmektedir. Çoklu mikotoksin metodlarında LC-MS/MS yönteminin ekstraksiyon ve temizleme basamaklarının optimum koşullarda oluşu yönünden avantajlıdır. Bu yöntemdeki dezavantaj matiks etkisidir. Matiksli standartlar hazırlanarak bunun önüne geçmek mümkündür (Açı ve Ocak, 2019). Campone ve ark. (2016)'nın çalışmasına göre, etkili bir clean-up ve ekstraksiyon işlemi sağlanırsa sütteki aflatoksin M1 analizi için LC-MS/MS metodlarının kullanılabileceği belirtilmiştir.

Heyer ve ark. (2017)'na göre bu yöntemin hızlı oluşu, türevlendirme adımı olmayışı, yapısal tespitin duyarlı oluşu avantajları arasındayken, başlangıç testi için uygun olmayışı ve çok yüksek maliyette oluşu dezavantajlarından sayılmıştır (El-Sayed ve ark, 2022).

1.2.4. Aflatoksinler

Dünyada ilk defa aflatoksinlerin ortaya çıkışı 1960 yılında İngiltere’de 100.000’den fazla hindi palazı ve ördek yavrusunun hastalanarak ölmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu hastalığının kaynağı Afrika ve Güney Amerika’dan ithal edilen yer fıstığı küspesi olduğu tespit edilmiştir (Bradburn ve ark., 1994). Aflatoksinler baharat, incir, süt ürünleri, mısır, yer fıstığı gibi geniş ürün tarımsal ürün yelpazesinde bulunabilmektedir. Aflatoksinler *Aspergillus* türlerinden *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *A. nomius* tarafından üretilen toksik maddelerdir (Hassan, Kassaify, 2014; Mehenktaş, 2019). Aflatoksinlerin, aflatoksin B1, B2, G1, G2, M1 ve M2 olmak üzere 6 çeşidi vardır. Aflatoksinler arasından en toksik en tehlikeli tür aflatoksin B1’dir (İqbal ve ark, 2015). Aflatoksin M1 ise aflatoksin B1 türünün hidroksilenmiş metabolitidir ve süt veren hayvanların kontamine olmuş yemlerle beslenmesi sonucu süt ve süt ürünlerinde görülmektedir. Süt veren hayvanların beslenme koşulları, genetik yapısı ve çevresel faktörlere bağlı olarak aflatoksin B1’in yaklaşık %0,3-6,2 si aflatoksin M1’e dönüşerek süte geçer (Unusan, 2006; Mehenktaş, 2019). Aflatoksin M1 UHT (Ultra High Temperature) ve pastörizasyon gibi ısı işlemlere dayanıklıdır. İnsanlar süt ve süt ürünleri tüketerek Aflatoksin M1’e maruz kalmaktadır. Peynirdeki aflatoksin konsantrasyonunun süttten yaklaşık olarak 4 kat daha fazla olduğu bilinmektedir (Sengun ve ark., 2008).

Aflatoksinler gıdalara direkt, indirekt ve taşınma yoluyla bulaşmaktadır. Direkt bulaşmada gıdada mikotoksin üreten küfün gelişmesiyle oluşurken indirekt kontaminasyonda gıda üretiminde kullanılan hammadde veya yardımcı maddelere küfün bulaşmasıyla oluşmaktadır. Taşınma yoluyla bulaşmada ise aflatoksin B1 kontamine olmuş yem tüketen hayvanların metabolizmaları sonucu aflatoksin M1 dönüşmesi ve süte bulaşmasıyla oluşmaktadır (Tiryaki ve ark., 2011).

Aflatoksinler gıdada meydana gelen ve insan sağlığını tehdit eden en toksik bileşiklerden biri olduğu için birçok ülkede, gıdada izin verilen limitleri yasal düzenlemeyle belirlenmiştir. Aflatoksinlerin vucuda alınabilecek günlük tolere edilebilir en yüksek seviyesi 0.2ng/kg olarak hesaplanmıştır (Prandini ve ark.,2009). Ülkemizde aflatoksin limitleri 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği’nde belirtilmiştir. Çiğ süt, ısı işlem görmüş

süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan sütte bulunabilecek maksimum aflatoksin M1 değeri 0.05 ppb-μg/kg'dır (Anonim, 2011b). Avrupa Komisyonunun sütte, aflatoksin M1 için belirlediği maksimum seviye 50ng/l'dir. Amerika'da ise sütte izin verilen maksimum aflatoksin M1 değeri 500 ng/l limitini geçmemelidir (Hassan ve Kassaify, 2014).

Çizelge 1.6'te Türk Gıda Kodeksinde bazı gıdalarda aflatoksin miktarları (μg/kg)'nın izin verilen maksimum değerleri gösterilmiştir.

Çizelge 1.6. Türk Gıda Kodeksinde bazı gıdalarda aflatoksin miktarları (μg/kg)'nın izin verilen maksimum değerleri (Anonim, 2011b)

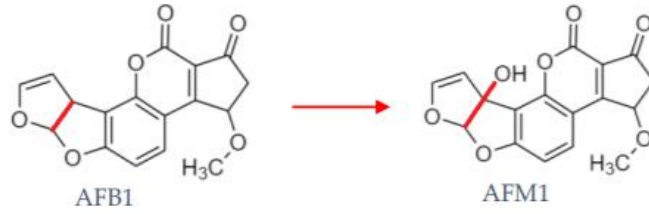
Gıda	AFB1(μg/kg)	B1+B2+G1+G2(μg/kg)	AFM1(μg/kg)
Çiğ süt, ısıtılmış süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	-	-	0.05
Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	-	-	0.025
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0.10	-	-
Kurutulmuş meyveler(doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8.0	10.0	-
Badem, Antepfıstığı,Kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8.0	10.0	-
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0.10	-	0.025
Baharatların aşağıdaki türleri için; -Kırmızı biber(<i>Capsicum spp.</i>) (Bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil) -Karabiber(<i>piper spp.</i>) (Bunların meyveleri,akbiber ve karabiber dahil)	5.0	10.0	-

Ülkemizde %12 nem içeren hayvan yemlerinde kabul edilebilir en yüksek aflatoksin miktarı 0.02 mg/kg iken karma yemlerinde ise maksimum limit 0,005 mg/kg olarak kabul edilmiştir (Anonim, 2011b). Ülkemizde Tarım ve Orman Bakanlığının ilgili personellerince 5996 Sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu kapsamında, kalıntı izleme programları esas alınarak, gıda olarak tüketilen süt ve süt ürünleri, tahıl ve yemlerden düzenli olarak numuneler alınarak analizleri yapılmaktadır.

1.2.4.1 Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 Oluşumu

Bazı süt ürünlerinde örneğin; Camembert, Roquefort ve Stilton gibi peynirlerde küf bulunması kabul edilebilir hatta arzu edilmekte ve istenilmektedir. Bu ürünlerdeki küfler, peynirdeki lezzet ve doku gelişiminde önemli rol oynamaktadır (Benkerroum, 2016).

Mikotoksinler süt ürünlerine 2 türlü kontamine olabilir. Birincisi süt üreten hayvanların tükettiği yemlerin kontamine olmasıyla süte geçmesi diğeri ise süt ve süt ürünlerine direkt mikotoksin kontamine olması. Süt ve süt ürünlerinde en çok rastlanan mikotoksin türü aflatoksin M1'dir. *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *A. nomius* tarafından aflatoksin B1 üretilerek hayvanların tükettiği yem aracılığıyla süte geçer ve vücutta metabolizma sonucu M1 ve M2 formuna dönüşür (Kırdar, 2006). Şekil 1.4'te Aflatoksin B1'in aflatoksin m1'e dekarboksilize olmuş formu gösterilmiştir. Aflatoksin B1, aflatoksin M1'den daha toksiktir fakat aflatoksin M1'de insanlar ve bazı hayvanlar için oldukça zararlıdır (Li ve ark., 2018). Weidenbömer (2001)'ün bildirdiğine göre aflatoksin B1 ile kontamine olmuş yemlerle beslenen hayvanların sütünde 12 saat sonra aflatoksin M1 bulunmuş ve 3 gün boyunca sütte kalmıştır. Aflatoksin M1 sadece sütte değil, pastörizasyon, sterilizasyon gibi ısı işlemlere dayanıklı olmalarından dolayı, peynir, yoğurt, krema gibi süt ürünlerinde de bulunmaktadır. Süt ve Süt ürünlerinde Aflatoksin M1 varlığı bu sebeple tüketiciler için endişe oluşturmaktadır. Çizelge 1. 2. 'de Aflatoksin m1'in farklı ülkelerdeki süt ürünlerinde düzenlenmesi verilmiştir.



Şekil 1.4. Aflatoksin B1'in aflatoksin m1'e dekarboksilize olmuş formu (Vaz ve ark., 2020)

Çizelge 1.7. Aflatoksin m1'in farklı ülkelerdeki süt ürünlerinde düzenlenmesi(Vaz ve ark.,2020)

Ülke	Süt(µg/L)	Süt Ürünü(µg/kg)
Türkiye	0.05	0.25(Peynir)
İran	0.05	0.50(Süt tozu)
		0.020(Tereyağı ve yağlı süt)
		0.250 (peynir)
Çin	0.5	0.5 (Süt Ürünleri)
USA	0.5	-
Avrupa Birliği	0.05	İtalya-0.25(yumuşak peynir)
	0.025(Bebekler ve küçük çocuklar için gıda ürünleri)	Avusturya-0.020(tereyağı); 0.25(peynir);0.40(süt tozu)
		Hollanda-0.020(tereyağı);0.020(peynir)
Brezilya	0.5	5 (süt tozu); 2.5(peynir)
Mısır	0	0

1.2.4.2 Aflatoksin M1 ve Toksisitesi

Aflatoksin M1 aflatoksin B1'nin monohidroksile türevidir (Murphy ve ark., 2006, Fallah ve ark., 2009). Aflatoksin M1 aflatoksin B1'in alımından 12 saat sonra sütte ortaya çıkabilir. Birçok ülkenin günlük beslenme programında her yaş grubu için süt bulunmaktadır ve araştırmalara göre sütlerle aflatoksin M1 alımının sağlık sorunu meydana getirdiğini göstermektedir (Fallah ve ark., 2009). Aflatoksin M1'in toksisitesi aflatoksin B1'den daha düşük olmasına rağmen sitotoksik, kansorejen ve genotoksik etkileri vardır. Aflatoksin B1 kanser yapıcı (Grup 1), aflatoksin M1 olası kanser yapıcı (grup 2B) sınıfındadır. Uluslar arası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) aflatoksinlerin (B1, B2, G1 ve G2) bilimsel olarak kanıtlanmış insan kanserojeni (grup 1) olarak sınıflandırmıştır. AFM1 ise “muhtemel insan karsinojenleri” olarak

bildirilmiştir (Anonymous, 2002). Marchese ve ark., (2018)'nın bildirdiğine göre aflatoksin M1 ve aflatoksin B1 maruziyetinin akciğer, karaciğer ve kolon kanserinin başlamasına ve ilerlemesine sebep olmaktadır Hayvanların aflatoksin M1 ile kontamine olmuş yem tüketmesi sonucu teratonojik (sakat veya ölü doğum) oluşmaktadır (Scaglioni ve ark., 2014) .Süt ve süt ürünlerindeki aflatoksin M1'in maksimum bulunma seviyesi ekonomiye bağlı olarak ülkeden ülkeye değişmektedir (Fallah ve ark., 2009). Çizelge 1.8'de aflatoksin m1'in farklı ülkelerdeki süt ürünlerinde düzenlenmesi gösterilmiştir.

Çizelge 1.8. Çeşitli ülkelerde süt ve süt ürünlerinde aflatoksin m1 yaygınlığı üzerine yapılan çalışmalar (Salari ve ark., 2020)

Ülke	Numune Sayısı	Oran (%)	Kaynak
İran (2016)	60	56.7	Çiğ İnek Sütü
Çin (2018)	242	73.6	UHT,Pastörize İnek Sütü
Endonezya (2019)	42	92.9	Pastörize,çiğ İnek sütü
Costa Rika (2019)	183	5.6	-
Kenya (2019)	96	99.5	Çiğ İnek Sütü
Türkiye (2019)	120	89.2	-
Amerika Birleşik Devletleri (2018)	15	33.3	Çiğ İnek Sütü
Yunanistan (2013)	196	46.4	-
İspanya (2010)	72	94.4	UHT inek sütü
Türkiye (2019)	105	99.0	Çiğ,Pastörize, UHT inek sütü
İtalya (2016)	58	60.3	-
Katar (2018)	72	84.7	Pastörize,UHT inek sütü
Sırbistan (2009)	90	31.1	UHT,Pastörize koyun,inek,keçi sütü
Hindistan (2012)	45	66.7	UHT inek sütü
Suriye (2009)	126	80.2	Pastörize inek,koyun,keçi sütü

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. *Listeria monocytogenes* Üzerine Yapılan Önceki Çalışmalar

Kum (2009) Kayseri’ de satışa sunulan çiğ süttten ve ısıt işlem görmüş süttten elde edilen 50 adet lokal peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığının kültür yöntemleriyle belirlenmesi üzerine bir çalışma yapmış ve en yüksek kontamasyon yüzdesini (%22.7) çömllek peynirinde bulmuştur. Kontamisyondaki yüksek oranın bu peynirin çiğ süttten elde edilmesine ve yetersiz hijyen koşulları altında üretilmesine bağlamıştır.

Ceylan ve Demirkaya (2006) Erzurum da satışa sunulan 29 adet salamura beyaz peynirlerinde *Listeria monocytogenes* varlığı ve bazı mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine çalışma yapmış olup analiz edilen peynir örneklerinin sadece bir tanesinde *Listeria monocytogenes* bulmuştur (%3,45). Analiz edilen örneklerde maya-küf oranına da bakılmış olup, örneklerin %96,55’inin beyaz peynir standardı’nda belirtilen üst sınırı aştığı (ortalama 3,23 log) belirtilmiştir.

Melo ve ark (2014) peynir ve süt ürünleri ortamında *Listeria monocytogenes* gıda güvenliği sorunu ve stres tepkilerinin rolü üzerine çalışma yapmış, çalışma sonucunda süt ve süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes*’in kontrol önlemleri, işleme ortamları sürekli ve titiz bir şekilde dikkat, izleme ve düzeltme gerektiren bir eylem sonucuna varılmıştır.

Azak (2011) Erzincan ili tulum peynirlerinde *Listeria spp.* izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla yaptığı çalışmada, 100 adet Erzincan tulum peyniri örneği ISO 11290-1/A1-2004 yöntemi kullanarak analiz edilmiş olup, analiz sonucunda 3 örnekte (%3) *Listeria monocytogenes* izole ve identifiye etmiştir. Araştırma sonucuna göre bulaşmanın olduğu tulum peynirinin tüketimi sonucu halk sağlığını tehdit edebileceği sonucuna varılmıştır.

Şanlıbaba ve ark. (2018) çiğ süt ve süt ürünlerinde *Listeria* türlerinin oranlarını saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada Ankara’da satılan rastgele seçilmiş 110 örnek analiz edilmiş olup örneklerin 23’ünde *Listeria spp.* bulunduğu tespit edilmiştir. *L. innocua* türü %20.91 oranla en yüksek bulunurken, *Listeria monocytogenes*’in %4.55 oranında bulunduğu tespit edilmiştir. *Listeria spp.*’nin en yüksek oranda (%9.09) ev yapımı peynirlerde bulunduğu tespit edilmiştir.

Al ve ark. 2020 yılında yaptığı çalışmada Kayseri ve Niğde’de tüketime hazır gıdalarda (64 etsiz çiğ köfte, 54 mayonez bazlı Rus salatası, 25 peynir tatlısı) *Listeria monocytogenes* varlığını araştırmış ve çalışmada incelenen çiğ köfte örneklerinin % 10.9’unun, Rus salatası örneklerinin ise 1.85’inin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Analiz sonucunda hiçbir peynir tatlısında *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir.

Najand ve ark. (2015)’nın yaptığı çalışmada İran’ın Kirman bölgesinde 2011 yazında, çeşitli süt üretimi yapan çiftliklerden 100 adet örnek toplamış, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak *Listeria monocytogenes* varlığı araştırılmıştır. Analiz sonucunda yüz örnekten 5’inde (%5) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Her ne kadar çalışmada *L. monocytogenes* düşük sıklıkla çıkmış olsa da çüğü süt ürünlerinin potansiyel gıda kontaminasyon kaynağı göz ardı edilemeyeceği, çiğ sütte *L. monocytogenes* varlığının daha iyi tespiti için yeni standartlardaki laboratuvarların yanı sıra eğitim ve yeni yönetim tekniklerinin uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Emamzadeh (2016) Erzurum ilinde satılan 10 beyaz peynir, 10 civil peynir, 5 kaşar, 5 çiğ süt örneğinde *Listeria* varlığını araştırmış olup yöntem olarak da geleneksel yöntem (EN ISO 11290-1, ISO 11290-2) ve immuno manyetik separasyon (IMS) yöntemi kullanmıştır. Analiz sonucunda 30 örneğin 15’inde (%50) *Listeria spp.* izole edilmiş olup, *Listeria spp.* izolatlarının identifikasyonu sonucunda 3’ü *Listeria monocytogenes* olarak tanımlanmıştır. Ayrıca geleneksel analiz yöntemiyle IMS analiz yönteminin aynı hassasiyette olduğu fakat IMS yönteminin daha hızlı sonuçlar verdiği için kullanımının daha uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

Durmaz ve ark. (2008), künefe üretim aşamasında *L. monocytogenes*’in termal yıkım normlarını (D ve z değerlerini) belirlemek üzere bir araştırma yapmış olup, *L. monocytogenes*’in 1/2b serotipinin termal ölüm süreleri, (D değerleri) 58.5, 62.5, 66.5 ve 70.5°C’lerde sırasıyla 26.41, 5.37, 2.18, 1.08 dakika olduğu, 4b serotipinin değerlerinin de aynı sıcaklıklarda 27.19, 8.13, 3.12 ve 1.19 dakika olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak künefe 70°C’de 8-10 dakika sıcaklığı maruz bırakıldığında patojenik bakterileri yok ederek güvenli olarak tüketilebileceği bulunmuştur.

Mqundu ve ark. (2021)’nin tüketime hazır gıdalarda antibiyotiğe dirençli *Listeria monocytogenes* prevalansına küresel bir bakış üzerine yaptıkları çalışmada %22 oranla tavuk ürünlerinde en yüksek bulunurken ,%21 oranla çeşitli kategorize edilmemiş

tüketime hazır ürünlerin izlediği bulunmuştur. Antibiyotik direnci ise %80 oranla en yüksek direnç penisilinde gözlenirken, %47 ile sefalosporin izlemiştir

2.2. Aflatoksin M1 Üzerine Yapılan Önceki Çalışmalar

Divle tulum peynirinde aflatoksin M1 düzeyi üzerine yapılan bir araştırmada 55 adet Divle tulum peyniri örneği, halk pazarları ile peynir satan marketlerden rastgele alınarak analiz edilmiş ve analize alınan 10 örnekte ortalama 10.835 ± 6.70 ng/kg seviyesinde AFM1 tespit edilmiştir. Örneklerin 22'sinde (%40.0) AFM1 hiç belirlenemezken, 23'ünde (%41.82) 5 ng/kg'ın altında bulunmuştur. Örneklerin hepsinin aflatoksin M1 seviyesi yönünden Türk Gıda Kodeksi'nde peynirler için verilen limitlere (500 ng/kg) uygun olduğu ortaya konmuştur (İşleyici ve ark., 2011).

Tadesse ve ark. (2020) yılında yerel ve endüstriyel pazarlanan süt ürünlerinde (Etiyopya) aflatoksin M1 düzeyi üzerine yaptıkları çalışmada 108 adet süt, 82 adet süzme peynir, 93 adet yoğurt, 82 adet terayağı olmak üzere 365 örnek toplanmış olup 108 adet süt, 82 adet süzme peynir, 93 adet yoğurt örneklerinin hepsinin AFM1 kontamine olduğu, 82 adet terayağı örneğinin de %94.2'nin kontamine olduğu bulunmuştur.

Tayo ve ark.(2013), süt tozu örneklerinin mikrobiyolojik kalitesinin ve aflatoksin M1 varlığının değerlendirmesi üzerine yaptığı çalışmada Nijeryada farklı pazarlarda satılan 25 süt tozu örneği incelenmiş ELISA tekniğinin kullanıldığı örneklerin hepsinde aflatoksin M1 ile kontamine olduğu tespit edilmiştir.

Erkan ve ark.'ları (2009) Diyarbakır örgü peynirinde aflatoksin M1 ile veratoksin 1 ve 2 varlığının araştırılması üzerine yapılan çalışmada Diyarbakır ilinde çeşitli market ve şarküterilerde açıkta satışa sunulan 90 adet örgü peynir örneği incelenmiş, örneklerde aflatoksin M1 varlığı %46,67 olarak bulunmuştur. Örgü peynirlerinin %14.44'ünde Türk Gıda Kodeksi'nce izin verilen değerlerden daha yüksek düzeyde Aflatoksin M1 tespit edilmiştir.

Okay (2021) UHT sütlerde ve ürünlerinde aflatoksin M1 varlığının araştırılması üzerine yaptığı yüksek lisans tez çalışmasında 75 adet UHT süt ve 54 adet UHT organik süt örneği incelenmiştir. İncelenen 75 adet UHT süt örneğinin tümünde de AFM1 tespit

edilmiştir. Ancak örneklerdeki AFM1 miktarının Türk Gıda Kodeksi (2011)'nde belirtilen maksimum limit değeri (0.05 µg/kg) aşmadığı görülmüştür.

Ağaoğlu ve ark.'ları(2020) Sivas yöresinde geleneksel olarak üretilen 90 küp peynirinde ELİSA yöntemiyle aflatoksin M1 varlığının araştırılması üzerine çalışma yapmış olup, analiz sonuçlarına göre küp peynirlerin hepsinde Aflatoksin M1 tespit edilmiştir. En düşük aflatoksin M1 seviyesi 2.16 ng/kg iken en yüksek seviye 53.94 ng/kg'dır.

Ardıç ve ark.'ları (2009) Erzurumda satılan 193 adet beyaz peynir örneğinde ELİSA yöntemiyle aflatoksin M1 düzeyini incelemişler. Örneklerin %82.4'ünde aflatoksin (50 ng/kg) M1 bulunmuştur. Örneklerin %26.4'ün Türk Gıda Kodeksinde belirlenen yasal sınırı (250ng/kg) aştığı görülmüştür.

Gücükoğlu ve ark.'ları (2010) Erzincan ilinde tüketime sunulan UHT süt ve süt ürünlerinden oluşan; 36 UHT süt, 18 beyaz peynir, 17 kaşar peyniri, 10 tulum peyniri, 10 eritme peyniri, 9 dil peyniri olmak üzere toplam 100 örnekte ELİSA yöntemiyle Aflatoksin M1 miktarını taramışlardır. Örneklerin %67'sinde farklı miktarlarda aflatoksin M1 tespit edilmiştir. Örneklerin %13'ünde Türk Gıda Kodeksinde belirlenen yasal sınırı (250ng/kg) geçmiştir.

Topal (2017)'in çalışmasında piyasadaki farklı yoğurt örneklerinde aflatoksin M1 düzeyini belirlemek için 73 yoğurt örneğini ELİSA yöntemiyle analiz edilmiştir. Toplam 73 yoğurt örneğinin 28'i normal, 12 tanesi süzme, 8 tanesi probiyotik karakterli, 17 meyveli yoğurt, 8 tanesi deorganik yoğurttan oluşmaktadır. Analiz sonucunda en düşük aflatoksin M1 ortalaması probiyotik yoğurtlarda görülürken, en yüksek ortalama organik yoğurtlarda görülmüştür. Örneklerin hiçbirinde Türk Gıda Kodeksinde yoğurtlar için belirlenen yasal sınır olan 50 ng/kg limitini geçmemiştir.

Martin ve ark.'ları (2000) sert peynir örneklerinde aflatoksin M1 seviyesini HPLC yöntemiyle belirlemek için Avrupalı 5 farklı ülkesinden toplam 128 peynir örneği Portekiz'in başkenti Lizbon marketlerinden toplamış olup analiz sonucunda 8 numunenin (%6.25) izin verilen maksimum seviyede (0.05 µg/kg) olduğu kalan 120 örneğin ise kontamine olmadığı (<0.005 ng/kg) tespit edilmiştir. Bu sonuçlar peynirlerin çok düşük oranda aflatoksin M1 kontaminasyonuna maruz kaldığını göstermektedir.

Yeşil ve ark.'ları (2018) Diyarbakır'da toplu ve perakende olarak satışa sunulan 248 sterilize süt, beyaz peynir, çeçil, çökelek, krema, Lor, Van otlı, Van otlı lavaş

peyniri ve tereyağı örneğinde aflatoksin M1 düzeylerine bakmışlardır. ELİSA yönteminin kullanıldığı bu çalışmada en düşük aflatoksin M1 değeri 50 ng/kg iken en yüksek değer 595.31 ng/kg olarak ölçülmüştür. Araştırma sonucunda 26 peynir, 15 tereyağı ve 7 süt örneğinin TKG aflatoksin M1 yasal limitlerinin üstünde belirlenmiştir.

Özgören ve Seçkin'in 2016 yılında yaptığı çalışmada, Ekim ve Kasım ayında Türkiye'nin 5 farklı ilinden 100 adet küflü peynir örneği rastgele marketlerden toplanarak aflatoksin M1 düzeyini ELİSA yöntemiyle analiz edilmiştir. Numunelerin 52'sinde aflatoksin M1 değeri 10.6 ile 702 ng/kg arasında çıkmıştır. Çalışma sonucunda küflü peynirlerin insan sağlığı için potansiyel tehlike oluşturabileceği kabul edilmiştir.

Hasninia ve ark.'ları (2022) İran'da yaz ve kış aylarında çiğ sütte aflatoksin M1 düzeylerini araştırmıştır. Çalışma sonucuna göre tüm numunelerin %16.7'sinin AFM1'in Avrupa Birliği (AB) limitinin (50 ng/L) üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Özellikle yaz mevsiminde hayvanların sütündeki aflatoksin M1 miktarının azaltılmasına yönelik proseslerin uygulanması tavsiye edilmektedir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması

Açıkta ve ambalajlı olarak satışı yapılan 60 adet künefelik peynir Hatay'ın merkez Antakya İlçesindeki farklı yerel market ve bakkallardan 2021 yılının Haziran ayında toplanmıştır. Her bir örnek 250 gramlık miktarlarda toplanmış ve numuneler soğuk zincir sistemi içerisinde tutulmuş, korunmuş ve takip eden günlerde mikotoksin ve mikrobiyolojik analize tabi tutulmuştur.

3.2. Örneklerin Hazırlanması

3.2.1. Aflatoksin M1

Mikotoksin hazırlıkları LC-MS/MS JASEM analiz kitinin talimatlarına göre yapılmıştır (SEM, İstanbul, Turkey) (Anon, 2021). Homojenize künefelik peynir örneklerinin 1 g'ı 10 ml distile suyla seyreltilir ve iyice karıştırılır. 1 mililitresi cam santifuj tübe alınır. Daha sonra 4 ml reagent 1 (JSMF0 1503) ilave edilir ve 15 saniye için karıştırılır. Daha sonra 3000 rpm'de dört dakika santrifuj edilir. Santrifuj sonrası, supernatant bir HPLC şişesine 0.45 mikron naylon filtreden süzülür ve doğrudan LC-MS/MS'e aktarılır.

3.2.2. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes için künefelik peynirler mikrobiyolojik analiz kurallarına uyularak ve soğuk zincir kırılmadan getirilmiştir. Gıda zincirinde *Listeria monocytogenes*'in belirlenmesi ve sayılması için revize edilmiş TS EN ISO 11290-1 2017 (Anonim, 2017) analiz metodu kullanılmıştır. Ön zenginleştirme için 225 ml half-fraser brotha (Merck) 25 g peynir örneği konulur, 24-26 saat 30 °C±1°C'de bekletilir. Seçici zenginleştirme 10 ml Fraser brotha (Merck) 0.1 ml kültür eklenir, 37°C±1°C'de 24±2 saat inkübe edilir. Plakaların seçici ağara (PALCAM agar-Merck), Oxford agar (Merck) 24±2 saat 37°C±1°C'de inkübasyonu gerçekleştirilir. Teyit ve sonucun ifadesi

için tipik koloniler ve işaretli koloniler Nutrient ağara (Merck) 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakılır. En sonunda sonuçların ifadesine geçilir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. *Listeria monocytogenes* varlığının Araştırılması

Çalışmamızda Hatay'da üretilen 60 adet künefe peynir örneği muhtelif işletmelerden tedarik edilmiş ISO/TS 11290-1 analiz metoduyla analiz edilmiş olup, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği Ek-1'e göre değerlendirilmiş ve 60 adet künefe peynirlerinin 25 gramında *L. monocytogenes* bulunmamıştır.

Türkiye'de şu ana kadar gıda kaynaklı listeriozis salgının bildirilmediği ve *Listeria monocytogenes* enfeksiyonlarının da çok az olduğu Ceylan ve Demirkaya (2006) tarafından bildirilmiştir. Yine Ceylan ve Demirkaya'nın Erzurum piyasasında temin edilen salamura beyaz peynirlerde *Listeria monocytogenes* varlığı ve bazı mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine yaptığı çalışmada 29 adet beyaz peynirden sadece bir tanesinde (%3.45) *L. monocytogenes* belirlenmiştir.

Sonuçlarımıza benzer olarak; Şahin ve Ayyıldız (2020) Sivas ilinde satışa sunulan 100 adet çiğ inek ve manda sütlerinde yapılan analiz sonuçlarında örneklerin hiçbirinde *L. monocytogenes*'e rastlamamıştır. Yine Acaröz ve ark.'larının (2017) yaptığı çalışmada 100 inek, 100 manda sütü olmak üzere toplam 200 örneğin hiçbirinde *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir.

Tuncay ve Sancak 2018 yılında yaptığı çalışmalarında Van ilinde üretilen 250 geleneksel otlu peyniri incelenmiş, peynirlerin 5 tanesinde (%2) *Listeria monocytogenes* izole edilmiştir. Bu sonuçlar Sagun ve ark.'larının(2001) ülkemizde *Listeria* enfeksiyonlarının %1 olduğuna dair değerlendirmeleri ile paralellik arz etmektedir.

Aygün ve Pehlivanlar (2006) Antakya'da satılan çiğ süt ve süt ürünlerinde *Listeria spp.* varlığı üzerine yaptıkları çalışmada toplam 157 çiğ süt ve süt ürünleri örneği incelenmiş olup, çiğ sütte *Listeria spp.* yaygınlığı %2.12 iken beyaz peynir örneklerinde %8.23 bulunmuştur. *Listeria monocytogenes* ise çiğ süt örneklerinde bulunmazken sadece iki peynir örneğinde (%2.35) tespit edilmiştir. Herhangi bir yoğurt ve terayağı örneğinde *Listeria spp.* görülmemiştir. Bir başka çalışmada Kaynar ve ark.'ları (2005) Ankara'da marketlerden topladıkları 30 adet salamura beyaz peynir örneklerinin hiçbirinde *Listeria monocytogenes* bulmamışlardır.

Avrupadaki örneklerden; Kasalica ve ark.'ları 2011'de yaptığı süt ve süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes* adlı çalışmada *Listeria monocytogenes* düşük

sıcaklıklarda bile büyüme ve çoğalması, donma sıcaklığında hayatta kalma özelliklerinin halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği vurgulanırken, Avrupa’ da çiğ sütte *L. monocytogenes*’in bulunması üzerine yapılan araştırmalarda ürünlerin %2.5-6’sının kontamine olduğu sonucundan bahsedilmiştir. Çiftlikte birincil süt üretiminden başlayarak üretim aşaması süt fabrikaları dağıtım ve depolama sırasındaki tüm süreçte *Listeria monocytogenes*in kontaminyasyonu kontrole odaklanması gerektiğini vurgulamışlardır.

Martinez-Rios ve Dalgaard (2017)’in Avrupa peynirlerinde *Listeria monocytogenes* üzerine yaptıkları çalışmada bilimsel literatür ve Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) raporları kullanılarak sistematik bir inceleme ve meta-analiz gerçekleştirmişlerdir. Çalışma için toplam 130.604 numuneden elde edilen veriler sonucunda 2005-2015 yılları arasında ortalama oranının güven aralığı %1.4-3.8 ile %2.3 olduğu bu sonuçların da EFSA raporlarından elde edilen sonuçlardan 3 katından daha fazla olduğu belirtilmiştir.

4.2. Aflatoksin M1 Analiz Sonuçları

Antakya merkezde üretimi ve satışı yapılan toplam 60 adet künefelik peynir numunesi şehrin değişik noktalarından temin edilerek LC-MS/MS yöntemi ile Aflatoksin M1 değerleri ölçüme alınmıştır. Analiz sonucunda peynir örneklerinin tümünün TGK (Türk Gıda Kodeksi) Bulaşanlar Yönetmeliğinde belirtilen, çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan sütte bulunabilecek maksimum Aflatoksin M1 değeri 0.05 µg/kg limitinin altında ve metodolojik olarak bakılan yöntemle göre analiz ölçümünün altında olduğu tespit edilmiştir. Dünya geneli ve ülkemizdeki çalışmalara bakıldığında süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M1 varlığının önemli düzeyde olduğu ve insan sağlığına karşı tehdit oluşturmaya devam ettiği görülmektedir. Ülkeden ülkeye, coğrafi konuma, refah düzeyine ve eğitim kalitesine göre aflatoksin M1 düzeyi farklılıklar göstermektedir. Ayrıca sütteki aflatoksin m1’in düşük olması süt veren hayvanların ilkbahar ve yaz mevsimlerinde yeşil yemle beslenmesine bağlanmaktadır. Kış aylarında pamuk, mısır, buğday gibi tahıl bitkilerinden üretilen yemlerin uygun olmayan depolama koşullarında yüksek seviyede aflatoksin m1 içerdiği bilinmektedir.

Avrupa ülkelerinde aflatoksin M1 riski refahlık düzeyi, halkın bilinçli olması, şikayet hatlarının devamlı çalışması sebepleriyle diğer ülkelere nazaran daha düşüktür.

Elde ettiğimiz bulgulara benzer olarak, Aksoy ve Sezer (2019)'ın yaptığı çalışmada Kars ilinde satışı yapılan çiğ süt, çeçil, kaşar ve gravyer peynirlerinde aflatoksin M1 düzeyini belirlemek için 200 adet numune analiz yapılmış analiz sonunda 150 peynirin 60'ında aflatoksin M1 tespit edilirken, tüm çiğ süt ve peynir örneklerinin Türk Gıdalarında izin verilen limitlerin altında olduğu tespit edilmiştir.

Alkan ve Gönülalan (2006) Amasya'da 50 farklı beyaz peynir örneğinde sadece 1 tanesinin yasal limitleri aştığını tespit etmiştir. Ayrıca Akgül(2021) tüketime sunulan Afyon tulum peynirlerinde aflatoksin M1 seviyesinin mevsimsel olarak araştırılması üzerine yaptığı çalışmada farklı mevsimlerde topladığı 80 adet peynir örneğinin analizi sonucu TGK'nde belirlenen üst sınırı (0.05 µg/kg) aşmaması bizim değerlerimizle benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Süt üreten hayvanların mikotoksin içermeyen yemlerle beslenmesi, yemlerin uygun koşullarda depolanması çalışma sonunda tavsiye edilmiştir.

Bir diğer araştırmada, Çinicioğlu (2017) 100 adet küflü Erzurum civil peynir örneklerinin 25'inde (%25) aflatoksinM1 tespit etmiş bu peynirlerin sadece 5 tanesindeki AflatoksinM1 değerinin TGK bulaşanlar limitini geçtiği ortaya konmuştur. Temamoğulları ve Kanici'nin (2014) çalışmasında, Şanlıurfa'da satılan 50 adet beyaz salamura peynirinin hiçbirinde aflatoksin M1 düzeyinin Türk Gıda Kodeksi yasal sınırını aşmadığını göstermiştir.

Dünya genelinde örnekler arasından, Shahbazi ve ark.(2017)'nin İran geleneksel peynirlerinde aflatoksin M1 maruziyetinin oluşumunu, mevsimsel değişimi ve risk değerlendirmesi üzerine yaptığı çalışmada 6 çeşit toplam 360 geleneksel peynirde ELİSA yöntemiyle aflatoksin M1 analizi yapılmıştır. Bulgular, AB limitleriyle karşılaştırıldığında örneklerin yaklaşık %10.5'inin limiti aştığı tespit edilmiş. Fakat çalışma sonucunda İran'daki geleneksel peynirlerin tüketiminin aflatoksin M1 açısından sağlık sorunu teşkil etmeyeceği kanısına varılmıştır.

Çizelge 4. 1.'de çeşitli ülkelerde farklı süt türlerinde aflatoksin M1 oluşumu ve farklı süt türlerinde insan maruziyeti gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı süt türlerinde aflatoksin M1 oluşumu ve farklı süt türlerinde insan maruziyeti(Turna ve Wu, 2021)

Ülke	Süt Çeşidi	Pozitif AFM1 Örnekleri(%)	AFM1 Oran (µg/L)	Kaynak	GünlükSüt Tüketimi(kg/gün)	Ortalama Günlük Alım(ng/kg)
Cezayir	Çiğ Süt	46.3	0.096-0.557	Mohammedi -Ameur et al.,2020	0.333(FAOSTAT,2017)	0.3425
Brezilya	Pastöriz e Süt	100	0.01-0.03	Sifuentes dos Santosal et al., 2015	0.132 (IBGE, 2010)	0.2321-0.6934
Mısır	Çiğ Süt	38	0.023-0.073	Amer and Ibrahim, 2010	0.113 (FAOSTAT, 2017)	0.0277
Yunanistan	Pastöriz e Süt	79.6	0.005-0.05	Roussi et al., 2002	0.624 (FAOSTAT,2017)	0.1838
	Çiğ İnek Sütü	64.3	0.05-0.055			
Hindistan	Pastörize Süt	82	0.027-2.281	Sharma et al., 2019	0.291 (FAOSTAT, 2017)	0.2991-0.3310
İran	Çiğ Süt	63.97	<0.01-0.41	Ghiasian et al. 2007	0.147 (FAOSTAT, 2017)	0.0971
İtalya	UHT Süt	41.7	0.003-0.005	Santini et al., 2013	0.1568 (EFSA, 2018)	0.0135-0.0538
İspanya	UHT süt	68	-0.014	Cano-Sancho et al., 2010	0.493 (FAOSTAT, 2017)	0.0486-0.0683
Türkiye	Çiğ Süt	21.1	0.011-0.1	Sahin et al., 2016	0.482 (FAOSTAT, 2017)	0.3429
		17	0.005-0.300	Keskin et al.,2009		
	UHT Süt	67	0.01-0.63	Tekinsen and Eken, 2008		

Brezilya’da Picinin ve ark.’larının (2013) yaptığı çalışmada 129 çiğ süt örneğinin tümünde aflatoksin M1 bulunduğunu tespit etmiştir. Asya ülkelerinden Wang ve ark.’ları (2012) çalışmalarında; 31 örnekten, 8 tanesinin Çin mevzuatındaki yasal sınırı (0,5 mg/kg) aşmadığını bulmuşlardır. Yine Çin’de Xiong ve ark.’ları (2022) tarafından yapılan bir çalışmada Çin’in farklı illerinden toplanan 845 süt ve yoğurt örneğinin

analiz sonucuna göre 329 yoğurt örneğinden sadece 4 tanesinin ve süt örneklerinden 14 tanesinin Avrupa Birliği yasal sınırı olan 50 ng/L limitini aştığı belirtilmiştir.

Çalışmamızın sonuçlarından tamamen farklı olarak da Erkan (2017) Elazığ'da satışa sunulan 100 adet şavak peynirinin hepsinde (%100) aflatoksin M1 tespit etmiştir. Bu durum sezona, yöreye, sütün temin edildiği bölge, hayvanların beslenme koşulları gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterebilecek ve toksinin süte-ürünlerine-hayvan organlarına-ete geçişleri ön plana çıkıyor olabilecektir.

Başka bir çalışmada Arnavutluk'ta 2019-2020 (Topi ve ark.,2022) yılları arasında satışa sunulan UHT ve pastörize sütlerde aflatoksin M1 varlığı araştırılmış analiz sonuçlarına göre 119 örneğin 62 sinde aflatoksin M1 tespit edilirken sadece 7 numunenin (%5.88) Avrupa Birliği İzin verilen maksimum kalıntı seviyesini aştığı görülmüştür. Azerbaycan'da Mamedova ve ark.'ları (2020) motal (kuru tulum peyniri çeşidi) peynirinde aflatoksin M1 düzeyini belirlemek üzere yaptığı çalışmada 110 peynir analiz edilmiş ve analiz sonucunda örneklerin 49 tanesinde aflatoksin M1 bulunurken, çalışmamıza benzer olarak hiçbir örneğin yasal limitleri aşmadığı tespit edilmiştir.

Dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalar dikkate alındığında aflatoksin M1 sütte bulunan ve insan sağlığını tehdit etmeye devam eden bir unsur olduğu görülmektedir. Ancak son yıllarda ülkemizde bakanlığa bağlı birimlerin yapmış olduğu denetimlerin sıklığının artması, Alo 174 gıda hattının aktif olarak tüketiciler tarafından kullanılması, tüketicilerin sağlıkla ilgili kaygıların artarak bilinçlenmesiyle, bu risklerin azaldığı görülmektedir. Çalışmamızın sonucu da bu kanıyı destekler niteliktedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tarımsal ürünlerde küflerin gelişimi ve toksin oluşumu ile natural oluşan aflatoksin B1 ters sağlık etkileri oluşturarak karaciğer kanserine sebep olmaktadır. Sürdürülebilir gıda güvenliği zincirinde memeli hayvanların yemlerinde aflatoksinle B1 ile bulaşık ve metabolik dönüşümü ile süt ve ürünlerinde potansiyel kanser riski taşıyan aflatoksin M1 LC-MS/MS yöntemi ile analiz edilen künefe peynirlerinin hiçbirinde tespit edilebilir limit dahilinde bulunmamıştır. Birçok devlet maksimum müsaade edilebilir aflatoksin M1 için limitler koymuştur (0.002-0.005 ppb aralığı). Bu neticeler dahilinde; Dünya ve Türk Gıda Kodeksi bulaşanlar tebliğine göre uygunsuzluk görülmemiştir.

Bu çalışma kapsamında yöresel ve ulusal tatlardan biri olan künefede ana unsurlardan biri olan künefelik peynirlerde en önemli listeriosis etmeni olan *Listeria monocytogenes* TS EN ISO 11290-1 yöntemi ile toplam 60 numune bakılmış ve numunelerin hiçbirinde 25 g'da tespit edilememiştir. Bu bakteri insanda ve hayvanda kullanılan antibiotiklere ve ayrıca temizlik ajanlarına natürel olarak dayanıklı bir karakter sergileyebilmektedir.

Yukarıda elde edilen veriler ve bilgiler ışığında okuyuculara ve bu alanda çalışma yapmak isteyen bilim insanı-araştırmacılara bazı öneriler sunma ve bu konuda bir perspektif oluşturma sağlanabilir:

*İnsanların sağlıklı ve güvenli beslenmeleri için en iyi pratik uygulamaların mutlaka zincir kırılmadan ve prosedürlere uygun bir şekilde yaşanabilir kılınması büyük önem arz eder,

*Küf gelişimi ve toksini oluşumunun olmadığı yemler ile hayvan besleme uygulamaların ön plana çıkarılması tavsiye edilir,

*Sağlıklı ve güvenli üretimlerin olduğu süreçlerin devam ettirilebilirliğinin sağlanması,

*Sütlerde iyi bir kontrol ve izleme zincirinin kurulması,

*Sütler için ısıl işlemlerde normlar (sıcaklık-süre) hayati önem taşır bu normlara dikkat edilmeli,

*Hayvanların beslenmesinde oluşmuşsa toksinli yemin mutlaka (aktif karbon, sodyum-kalsiyum bentonit vb) bağlayıcılara zarar vermeyecek ve toksini bağlayarak çıkan sistemlerle kurgulanması da makul ve mantıklı olabilir,

*Süt veren hayvanın sağlığı için beslenme yönetimi; yani her aşamada ön karışımlar, mineral beslemeler ve special reçeteler dahil edilmeli,

*Probiyotik yem ilaveleri, fitojenik yem katkı maddeleri mide-barsak performans yönetimi içinde olmalı.

*Mikotoksin risk yönetimi sergilenmeli, yüksek teknoloji ve öncelikli destek hayvan refahı için ön plana çıkarılmalı,

**Listeria monocytogenes* hamile kadınlar, yaşlı yetişkinler ve immün sistemi zayıf ve kronik hastalıkları olan kişiler için ciddi bir listeriosis etmenidir. Patojen mikroorganizmalar ve toksik ürünlerini içine alan biyolojik ajanlara karşı gerekli tedbirler işleyeciler, dağıtım, soğuk zincir ve devletin izleme birimleri tarafından tedarik edilmelidir,

*Uygunsuz sıcaklık ve ısıtma işlemi, güvensiz formülasyon, yetersiz mayalama, taşıma süresince veya depolamada işlem sonrası bulaşı, imalat süresince yetersiz kalite kontrol ortadan kaldırılmalı ve ön gereksinim unsurları iyi yapılmalıdır,

*Şiddetli enfeksiyon, beyinde menenjit veya süngerleşme etmeni olan bu bakteri kemik, eklem ve göğüs ve karın taraflarında komplikasyona oluşturmakta, üstesinden gelmek için engeller parametrelerini uyguluyor olunmalı,

*Gıda bulaşısı ve hamile kadınlardan plasenta ile geçiş olmaktadır. Enfeksiyon etmenlerinin önüne geçmek ve anne adaylarının ulaştığı besinlerin mutlaka sağlıklı ve güvenli olması hayati bir durum taşır,

**Listeria monocytogenes* doktor tanısı ile tedavisi antibiyotik ile kolaylıkla sağlanabilmektedir,

*Türkiye’de listeriosis kayıtları tutulmamaktadır. Ancak Birleşik Devletlerde yılda 1600 kişi muzdarip olmakta, amaç bu sayısal değerleri minimize etmek olmalıdır,

*Mikotoksin yönetimi ve listeriosis insan sağlığı yönünden kısa ve uzun vadede potansiyel tehdit olarak varlığını devam ettiriyor olacaktır. İnsan sağlığı, hayvan refahı ve bitkilerim konforu bir arada değerlendirildiğinde hassasiyet en uygun peryotta sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

- Acaröz, U., Arslan-Acaröz, D., Kara, R., Zemheri, F., Gürler, Z., 2017. Afyonkarahisar ilinden toplanan manda ve inek sütlerinde *Listeria* türlerinin varlığının belirlenmesi. **Kocatepe Vet J.** ; 10(4): 264-268.
- Acosta, A., McCorriston, S., Nicolli, F., Venturelli, E., Wickramasinghe, U., ArceDiaz, E., Scudiero, L., Sammartino, A., Schneider, F., Steinfeld, H., 2021. Immediate effects of COVID-19 on the global Dairy sector, **Agricultural Systems**. S.192.
- Açu, M. ve Ocak, Ö.Ö., 2019. Gıdalarda Aflatoksin Düzeylerinin Belirlenmesinde Kullanılan Analiz Yöntemleri. **Sinop Üniv. Fen Bilimleri Dergisi**, 4 (2): 168-181.
- Ağaoğlu, S., Alemdar, S., Ercan, N., 2020. Sivas Bölgesinde Üretilen Küp Peynirlerde Aflatoksin M1'in Varlığı. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, 8(3), 520–525.
- Akgül, M., 2021. Afyon tulum peynirlerinde aflatoksin M1 seviyesinin mevsimsel olarak araştırılması, **Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi**, Afyon, 37s.
- Akın, M.B., Akın, M.S., 2020. Traditional cheeses in Southeastern Anatolia Region in Turkey.(Edited by Celile Aylin Oluk, Oya Berkay Karaca, Bentham). In: **Traditional cheeses from selected regions in Asia, Europe, and South America** Science Publishers Pte. Ltd. Singapore. ISBN (Online): 978-981-14-3236-1; ISBN (Print): 978-981-14-3235-4. pp. 231-253.
- Aksoy A. ve Sezer Ç., 2019. Evaluation of Aflatoxin M1 Presence in Raw Milk and Some Cheese Types Consumed in Kars. **Kocatepe Vet J.** 12(1):39-44.
- Al S., Barel M., Dışhan A., Karadal F., Hızlısoy H., Ertaş Onmaz N., Yıldırım Y., Gönülalan Z., 2020. Tüketime hazır gıdalarda *Listeria monocytogenes* varlığının araştırılması. **Erciyes Üniv Vet Fak Derg**; 17(2): 149-155.
- Alkan, Y. ve Gönülalan, Z., 2006. Amasya İlinde Satışa Sunulan beyaz Peynirlerde Aflatoksin M1, Rutubet ve Asidite Değerleri üzerine bir araştırma. **Sağlık Bilimleri Dergisi**, 15(2), 91–98.
- Altuntaş, S. , Korukluoğlu, M., 2018. Gıda İşleme Tesislerinde *Listeria Monocytogenes* ve Mücadelede Yeni Yaklaşımlar. **Gıda** 43:101-113.
- Amr Amer, A., Ekbal Ibrahim, M.A., 2010. Determination of aflatoxin M1 in raw milk and traditional cheeses retailed in Egyptian markets. **Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences**, 2 (4): 50-53.
- Anonim 2011(a). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, Ek 1. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm>. Erişim tarihi:14.01.2022.
- Anonim, 2007. <https://www.turkpatent.gov.tr>. Erişim tarihi:17.03.2022
- Anonim, 2011(b). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar, T.C. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011 sayı:28157. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8.htm>. Erişim tarihi:23.03.2022
- Anonim, 2017.TS EN ISO 11290-1:2017.Gıda zinciri mikrobiyolojisi-*Listeria monocytogenes* ve *Listeria spp.*'nin aranması ve sayımı için yatay metod bölüm 1:Arama metodu.
- Anonim, 2022a. <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/uretimler/>. Erişim tarihi:27.04.2022.
- Anonim, 2022e. <https://slideplayer.biz.tr/slide/12773697/>. Erişim tarihi:26.04.2022.

- Anonim, 2022g. *Listeria Monocytogenes* Analizi <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210011602.pdf>. Erişim tarihi:22.04.2022.
- Anonymous ,2022c.Meat and Livestok Australia. 2006. *Listeria monocytogenes* in Smallgoods: Risks and Controls. Meat and Livestock Australia Limited. Sydney. Sydney. Retrieved from <https://www.mla.com.au/research-and-development/search-rdreports/final-report-details/ProductIntegrity/Listeria-monocytogenes-in-smallgoodsrisks-and-controls/2328>.Erişim tarihi:20.03.2022..
- Anonymous, 2002 . World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. Volume 82. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, Naphthalene and Styrene. Summary of Data Reported and Evaluation.
- Anonymous, 2019.Food safety. <https://www.fao.org/food-safety/en/>.Erişim tarihi:07.04.2022.
- Anonymous, 2022b. <https://www.cheese.com>. Erişim tarihi:26.04.2022.
- Anonymous,2021.Jasem Kit.Food Safety and Quality.Available online:<https://jasem.com.tr/en/products/food-safety-quality/>Erişim tarihi:20.01.2022.
- Anonymous,2022d. <https://goadnews.com/six-graindorge-brand-cheeses-recalled-for-risk-of-listeriosis/>.Erişim tarihi:07.04.2022.
- Anonymous,2022f.<https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/listeria-listeriosis>.Erişim tarihi:07.04.2022.
- Anonymous. 2016. <https://www.nsw.gov.au/>.Erişim tarihi:20.04.2022.
- Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Kahraman, M., Akay, Ö., Ilgaz, A., İzgür, M. ve Diker, KS., 1999. **Özel Mikrobiyoloji**.Medisan Yayınevi, 362 s. Ankara.
- Ardıç, M., Karakaya, Y., Atasever, M., & Adıgüzel, G., 2009. Aflatoxin M1 levels of Turkish white brined cheese. **Food Control**, 20(3), 196–199.
- Aslan-Günay, S., 2019. Hatay İlinde Farklı Yöntemler ile Üretilen Künefe Peynirlerinin Kalite Özellikleri.**Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi**, Hatay,54 s.
- Aygun, O. ve Pehlivanlar, S., 2006. *Listeria* spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. **Food Control**, 17: 676–679.
- Azak, M.G., 2011. Erzincan İli Tulum Peynirlerinde *Listeria* spp. İzolasyonu ve İdentifikasyonu. **Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri,54s.
- Bannester, B.A., 1987. *Listeria monocytogenes* meningitidis associated with eating soft cheese **J. of Infec.**, 15:165-168.
- Benford, D., Dekant, W., Fuchs, R., Gaylor, D.W., Hard, G., McGregor, D.B., Pitt, J.I., Plestina, R., Shephard,G.,Solfrizzo, M., Verger, P.J.P., Walker, R., 2001. Ochratoxins In Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. WHO Food Additives series 47. Geneva, World Health Organization. 281-387.
- Benkerroum, N., 2016. Biogenic Amines in Dairy Products: Origin, Incidence, and Control Means. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4): 801-826.
- Bizani, D., Morrissy, J.A.C., Dominguez, A.P.M., Brandelli, A., 2008. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in dairy products using the bacteriocin-like peptide cerein 8A, **International Journal of Food Microbiology**, 121: 229-233.

- Bortolussi, R., Mailman, T.L., 2006. Listeriosis. In: Remington JS, Klein JO, editors. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 6th ed. W.B. Saunders Company;. Pp. 465-83.
- Bradburn, N., Coker, R.D. and Blunden, G., 1994. The aetiology of turkey „X“ disease. **Phytochemistry**, 35, 817.
- Campone, L., Piccinelli, A.L., Celano, R., Pagano, I., Russo, M. and Rastrelli, L., 2016. Rapid and automated analysis of aflatoxin M1 in milk and dairy products by online solid phase extraction coupled to ultra-high-pressure-liquid-chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A** 1428:212-219.
- Cano-Sancho, G., Marin, S., Ramos, A. J., Peris-Vicente, J., & Sanchis, V., 2010. Occurrence of aflatoxin M1 and exposure assessment in Catalonia (Spain). **Revista Iberoamericana de Micología**, 27(3), 130-135.
- CAST, 2003. Mycotoxins: Risks in Plant, Animal and Human Systems. Report No. 139. **Council for Agricultural Science and Technology**, Ames, Iowa, USA.
- CDC(Centers for Disease Control and Prevention),2020. <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/index.html>. Erişim tarihi:06.01.2022.
- Ceylan, Z.G., Demirkaya, A.K.,2007. Erzurum piyasasından temin edilen salamura beyaz peynirlerde *Listeria monocytogenes* varlığı ve bazı mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. **Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 38: 137-141.
- Clark, C.G. et al. (2009).Surveillance for *Listeria monocytogenes* and listeriosis, 1995-2004. **Epidemiology and Infection**, 138:559-572
- Climate Change 2014: Impacts,adaptation, and vulnerability. PartA: Global and sectoral aspects.Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, pp. 485–533.Cambridge, UK and New York,USA, Cambridge University Press.
- Cotter, P.D., Gaban, C.G.M. ve Hill, C. 2000. Analysis of the role of *Listeria monocytogenes* F0F1-ATPase operon in the acid tolerance response. **International Journal of Food Microbiology**. 60: 137-146.
- Çinicioğlu, S., 2017. Erzurum İline Ait Geleneksel Küflü Peynirlerinde Total Aflatoksin Ve Aflatoksin M1 Varlığının Araştırılması.**Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi,Kayseri,76 s.
- Demir, Y., 2021.Yeni Tip Koronavirüs (Covid-19) Salgınının Dünya Gıda Sistemi Üzerindeki Etkileri.**Aydın Gastronomy** 5 (2), 131 – 141.
- Demirhan.,B. E. ve Demirhan, B.,2020.Gıda Güvenliği Açısından Yeni Koronavirüs (Covid-19) Hastalığına Genel Bakış.**Gazi Medical Journal**, 31,510:512.
- Demirtaş, N.Ö.,2006. Yöresel Peynirlerde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Yöntemiyle Belirlenmesi. **Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi, Ankara,42s.
- Duman, 2011.Kahramanmaraş ve Şanlıurfa Tipi Kırmızı Pul Biber İşleme Tekniklerinin Küf Gelişimi ve Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi. **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü** Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Doktora Tezi.Adana.136 s.
- Durmaz, H., Çelik, S., Aygün, O., 2008. Thermal destruction of *Listeria monocytogenes* during manufacture of Kunefe, a traditional Turkish dessert. **Milchwissenschaft**, 63(1):30-33.

- EFSA, 2013. European Food Safety Authority. EFSA reports on *Listeria* levels in certain ready-to-eat foods. <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/130627>. Erişim Tarihi:17.10.2021.
- EFSA, 2018. European Food Safety Authority. The Comprehensive Food Consumption Database,
- El-Sayed, A.S., Ibrahim, H., Farag, M.A., 2022. Detection of Potential Microbial Contaminants and Their Toxins in Fermented Dairy Products: a Comprehensive Review. *Food Anal. Methods*.
- Emamzadeh, S.S., 2016. Süt ve Süt Ürünlerinde *Listeria* spp. Varlığının Klasik ve İmmunomanyetik Separasyon Yöntemiyle Araştırılması ve İzolatların Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi. **Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi**, Erzurum, 62 s.
- Erkan, M.A., Vural, A., Güran, H.Ş., 2009. Diyarbakır Örgü Peynirinde Aflatoksin M1 ile Verotoksin 1 ve 2 Varlığının Araştırılması. **Dicle Üniv. Vet. Fak. Derg.** : 1 (1): 19-25, ISSN: 1308-0679.
- Erkan, S., 2017. Elazığ'da satışa sunulan şavak tulum peynirlerinin Aflatoksin M1 (AFM1) ve bazı kimyasal parametreler bakımından incelenmesi. **Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi**, Elazığ, 59s.
- Eroğlu, A., 2011. Ege bölgesinde tüketilen bazı geleneksel peynirlerdeki aflatoksin M1 düzeyinin belirlenmesi. **Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi**, Manisa, 76 s.
- Erol, G., 2007. **Gıda Hijyeni ve Teknolojisi**. Birinci Baskı, Ankara, Pozitif Matbaacılık. 392s. ISBN: 978-975-00131-0-9.
- Fallah, A., Jafari, T., Rahnema, M., 2009. Determination of Aflatoxin M1 levels in Iranian white and cream cheese. **Food and Chemical Toxicology**, 47:872-1875.
- FAO, 2020. COVID-19 and the impact on food security in the Near East and North Africa: How to respond? Cairo. <https://doi.org/10.4060/ca8430en>.
- FAO, 2017. The Future of Food and Agriculture: Trends and Challenges. <http://www.fao.org/3/a-i6583e.pdf>. Erişim tarihi:07.02.2022.
- FAOSTAT Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017. Food Supply 413 Quantity. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>.
- Farber JM, Peterkin PJ, 1991. *Listeria monocytogenes*, *Microbiol Rev*, 55: 476-511.
- Farber JM, Wang SL, Cai Y, Zhang S (1998). Changes in populations of *Listeria monocytogenes* inoculated on packaged fresh-cut vegetables. **J Food Prot**, 61, 192-195.
- Farber, J.M. 1991. *Listeria monocytogenes*. **Journal of AOAC International**, 74(4): 701- 704.
- Food Control**, Volume 118.
- Food Safety Authority of Ireland. (2005). The Control and Management of *Listeria monocytogenes* Contamination of Food. Dublin https://www.fsai.ie/resources_publications.html. Erişim tarihi:21.03.2022.
- Gasanov, U; Hughes, D and Hansbro, P.H., 2005. Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: a review. **FEMS Microbiol. Rev.**, 29: 851-875.
- Ghiasian, S. A., Maghsood, A. H., Neyestani, T. R., & Mirhendi, S. H., 2007. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk during the summer and winter seasons in Hamedan, Iran. **Journal of Food Safety**, 27(2), 188-198.

- Girgin, G., Başaran, N., Şahin, G., 2001. Mycotoxins in Turkey and The World. **Türk Hij Den Biyol Derg.** 58 (3), 97- 118.
- Gong, Y., Y., Cardwell, K., Hounsa, A., Egal, S., Turner, P., C., Hall, C., P., 2002. Dietary Aflatoxin Exposure and İmpaired Growth in Young Children from Benin and Togo: cross sectional study, **BMJ journals**, Vol. 325, pp. 20- 21.
- Grace, D., 2015. Food safety in developing countries: An overview, **International Journal of Environmental Research and Public Health** 12(9), 10490–10507.
- Gücükoğlu A., Çadırcı Ö., Özpınar N., 2010. UHT Süt ve Peynir Örneklerinde Aflatoksin M1 Varlığının Belirlenmesi. **Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg.**, 21: 45 – 50.
- Hacıbekiroğlu, I., 2013. Gıda Örneklerinde Aflatoksin (G1, G2, B1, B2) ve Okratoksin A'nın HPLC Metot Validasyonu ve Miktar Tayinleri. **T.C. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Doktora Tezi, İstanbul, 121s .
- Hasninia, D., Salimi, D., Bahrami, G., Sharafi, K., Omer, K. A., Rezaie, M., Kiani, A., 2022. Human health risk assessment of aflatoxin M1 in raw and pasteurized milk from the Kermanshah province, Iran, **Journal of Food Composition and Analysis**, Volume 110.
- Hassan, H.F. ve Kassaify, Z., 2014. The risks associated with aflatoxins M1 occurrence in Lebanese dairy products. **Food Control**, 37, 68-72.
- Heperkan, D., 2006,.The importance of mycotoxins and a brief history of mycotoxin studies in Turkey. **ARI Bulletin of Istanbul Technical University** 54: 18- 27.
- Heperkan, D., 2014. **Mikotoksinlerin Önemi. Gıdalarda Mikotoksinler**, Heperkan, D. (ed.), Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir, Türkiye, s. 1-22.
- Heperkan, D., 2005. **Mikotoksinleri önemi ve Türkiye'deki mikotoksin çalışmaları**. II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiri kitabı, sayfa 3- 11, 23-24. İstanbul. <https://www.efsa.europa.eu/en/food-consumption/comprehensive-database>.
- Huang, L., 2009. Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground beef under isothermal and dynamic temperature conditions. **Journal of Food Engineering** 90: 380–387.
- ICMSF, 1996. Microorganisms in Food 5. Eds. T.A., Roberts; A. C., Baird-Parker, and R. B., Tompkin. Blackie Academic and Professional, An Imprint of Chapman and Hall, 511p.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008–2009 Aquisição Alimentar Domiciliar Per Capita Brasil e Grandes Regiões. (2010). http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/de459fault.shtm.
- IPCC. 2007. Climate Change 2007: Impacts, adaptation and vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, UK and New York, USA, Cambridge University Press.
- Iqbal, S.Z., Jinap, S., Pirouz, A.A., Ahmad Faizal, A.R. (2015). Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges: A review. **Trends in Food Science & Technology**, 46, 110-119.
- İşleyici, Ö., Sancak, Y. C., Morul, F., 2011. Divle Tulum Peynirinde Aflatoksin M1 Düzeyi Üzerine Bir Araştırma. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 22(2):105-110.
- Juntilla, J.R., Niemela, S.I. ve Hirn, J., 1988. Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and non-haemolytic *Listeria*. **Journal of Applied Bacteriology**. 65: 321-327.

- Karaca, O.B., Güven, M., Mutluer, U., Saydam, İ.B., 2008. Hatay künefe peynirinin yapılışı ve özellikleri. **Türkiye 10. Gıda kongresi**, 745-748, 21-23 , Erzurum.
- Kasalica, A., Vukovic, V., Vranjes, A., Memisi, N., 2011. *Listeria monocytogenes* in milk and dairy products. *Biotechn. Anim. Husbandary*, 27(3): 1067- 1082.
- Kaynar, Z., Kaynar, P., Koçak, C., 2005. Ankara Piyasasında Tüketime Sunulan Beyaz Peynirlerin Hijyenik Kalitelerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. **Türk Hij Den Biyol Derg** ; 62: 1-10.
- Keskin, Y., Başkaya, R., Karsli, S., Yurdun, T., & Özyaral, O., 2009. Detection of aflatoxin M1 in human breast milk and raw cow's milk in Istanbul, Turkey. **Journal of food protection**, 72(4), 885-88.
- Keskin, Y., O. Özyaral, R. Başkaya ve M. Susur. 2006. Semt pazarlarında satılan beyaz peynirlerin mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. **Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi**, 36, 9-19.
- Kırdar, S.S., 2006. Süt ve süt ürünlerinde mikotoksinler. **Türkiye 9. Gıda Kongresi**, Bildiriler Kitabı, s: 307-310.
- Koçan D., Halkman A.K., 2006. *Listeria monocytogenes* & Listeriozis. **Gıda** 31 (3): 131- 140.
- Kum, E. ,2009. Kayseri’de satışa sunulan peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığının kültür yöntemi ile belirlenmesi. **Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 60 s.
- Küçük, R., Tapkı, N., 2020. Hatay İlinde süt ve süt ürünleri üreten işletmelerin GZFT analizi ile değerlendirilmesi, **Journal of Animal Science and Products (JASP)** 3 (2):134-142.
- Leong, D., Alvarez-ordóñez, A., Jooste, P., Jordan, K. ,2016. *Listeria monocytogenes* in Food : Control by Monitoring the Food Processing Environment. **Afr J Microbiol Res**, 10(1): 1-14.
- 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.
- Lovett, J., Wesley, I.V., Vandermaaton, M.J., Bradshaw, J.G., Francis, D.W., Crawford, R.G., Donnelly, C.W. ve Messer, J.W., 1990. High-temperature short time pasteurization inactivates *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**. 53: 734-738.
- Luksiene, Z., Paskeviciute, E., 2011. Microbial Control of Food-related Surfaces : NaChlorophyllin-based Photosensitization. **J Photochem Photobiol B Biol**, 105: 69-74.
- Macvanın, M., 2004. Listerioza fatalna infektivna bolest sa »bezazlenim« simptomima. **Sci Tech**, 004, 54-56.
- Magalhães R., Mena C., Ferreira V., Almeida G., Silva J., Teixeira P., 2014. **Traditional methods for isolation of *Listeria monocytogenes*, in *Listeria monocytogenes: Methods and Protocols***, eds Jordan K., Fox E. M., Wagner M. (New York, NY: Springer Science;), 15–30.
- Mamedova, K., Atasever, M., & Aliyev, M., 2020. Determination of Aflatoxin M1 Level in Motal Cheese. **Khazar Journal of Science and Technology**, 38-54.
- Mansouri-Najand, L., Kianpour, M., Sami, M., Jajarmi, M., 2015. Prevalence of in raw milk in Kerman, Iran. **Journal of Veterinary Research**, Forum 6:223-226.

- Marchese, S., Polo, A., Ariano, A., Velotto, S., Costantini, S., Severino, L., 2018. Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in Cancer development. *Toxins*, (Basel) 10, 1-19.
- Martin, S.E., Fisher, C.W. 1999. *Listeria monocytogenes* in Encyclopedia of food microbiology. Ed: Robinson RK, Batt CA, Patel PD. Academic Press, 1228-1251.
- Martinez-Rios, V. ve Dalgaard, P., 2017. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in European cheeses: A systematic review and meta-analysis. **Food Control**. 84.
- Martins, M. L., Martins, H. M., 2000. Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature treated milk commercialized in Portugal. **Food Addit Contam**. 17:871-4.
- Matle, I., Mbatha, K.R., Madoroba, E., 2020, A review of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial resistance and diagnosis. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research** 87(1), a1869.
- McMullen, P.D., Freitag, N.E., 2015. Assessing bacterial invasion of cardiac cells in culture and heart colonization in infected mice using *Listeria monocytogenes*. **J Vis Exp**. 27;(99):e52497.
- Mehenktaş, C., 2019. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoxin M1. **Akademik Gıda**. 17(3): 439-443.
- Melo, J., Andrew, P. W., Faleiro, M. L. (2015). *Listeria monocytogenes* in cheese and the dairy environment remains a food safety challenge: The role of stress responses. **Food Research International**, 67: 75–90.
- Mohammed, S., Munissi, J. J., & Nyandoro, S. S., 2016. Aflatoxin M1 in raw milk and aflatoxin B1 in feed from household cows in Singida, Tanzania. **Food Additives & Contaminants: Part B**, 9(2), 85-90.
- Mpundu, P., Mbewe, A. R., Muma, J. B., Mwasinga, W., Mukumbuta, N., & Munyeme, M., 2021. A global perspective of antibiotic-resistant *Listeria monocytogenes* prevalence in assorted ready to eat foods: A systematic review. **Veterinary world**, 14(8), 2219–2229.
- Murphy PA, Hendrich S, Landgren C, Bryant C.M., 2006. Food mycotoxins: An update. **Journal of Food Science** 71, 51–65.
- OECD, 2020. DAIRY- OECD-FAO Agricultural Outlook 2016-2026. <http://stats.oecd.org/viewhtml.aspx>. Erişim tarihi: 26.02.2022.
- Oğuz, H., 2017. Mikotoksinler ve Önemi. **Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences Pharmacology and Toxicology**, 3(2) :113-119.
- Okay D. N., 2021. UHT sütlerde ve UHT Organik Sütlerde Aflatoxin M1 varlığının araştırılması, **Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi**, Van, 63 s..
- Oruç, H. H., 2005. Mikotoksinler ve Tanı Yöntemleri, Uludağ Univ. **J. Fac. Vet. Med**, 24(1-2-3-4): 105-110.
- Öksüztepe, G. ve Erkan, S., 2016. Mikotoksinler ve Halk Sağlığı Açısından Önemi . **Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi** , 5 (2) , 190-195 .
- Özgören, E. and Seçkin, K. A., 2016. Aflatoxin M1 contaminations in mouldy cheese, **Mljekarstvo** 66 (2), 154-159.
- Öztek, L., 1989. Kaşar Peynirinde Uçucu Serbest Yağ Asitlerinin Tayini Üzerinde Araştırmalar. **Gıda**, 14(3).
- Pagotto, F., E. Daley, and J. M. Farber. 2002. Enumeration of *Listeria monocytogenes* in foods, p. 1–5. MFLP-74. In D. Warburton (ed.), *Compendium of analytical*

- methods. **Health Canada methods of microbiological analysis of foods**, vol. 2. Polyscience Publications Inc., Montreal.
- Picinin, L. C. A., Cerqueira, M. M. O. P., Vargas, E. A., Lana, Â. M. Q., Toaldo, I. M., & Bordignon-Luiz, M. T., 2013. Influence of climate conditions of aflatoxin M1 contamination in raw Milk from Minas Gerais state, Brazil. **Food Control**, 31(2), 419–424.
- Pintado, C.M.B.S., Oliveira, A., Pampulha, M.E., Ferreira M.A.S.S., 2005. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from soft cheese. **Food Microbiology**, 22: 79–85.
- Porter, J.R., Xie, L., Challinor, A.J., Cochrane, K., Howden, S.M., Iqbal, nM.M., Lobell, D.B. & Travasso. M.I. 2014. Food security and food production systems. In IPCC.
- Prandini, A.G., Tansini, S., Sigolo, L., Filippi, M., Laporta, G., 2009. Piva On the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products. **Food and Chemical Toxicology** 47 (5), 984-991.
- Richard J.L., 2007. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses-An Overview. **International Journal of Food Microbiology**, 119, 3-10.
- Roche, S.M, Kerouanton, A., Minet, J., Le Monnier, A., Brisabois, A. ve Velge, P. 2009. Prevalence of low-virulence *Listeria monocytogenes* strains from different foods and environments. **International Journal of Food Microbiology**, 130: 151–155.
- Rocourt, J. & Buchrieser, C. (2007). **The genus Listeria and Listeria monocytogenes**: phylogenetic position, taxonomy, and identification. In *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*, 3rd edn, pp. 1–20. Edited by E. T. Ryser & E. H. Marth. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Rodrigues, C. S., Cláudia, R., Cordeiro, C. V. G., Melo, C. B., 2017. An Overview of *Listeria monocytogenes* Contamination in Ready to Eat Meat, Dairy and Fishery Foods. **Cienc Rural**, 47(2): 1–8.
- Roussi, V., Govaris, A., Varagouli, A., Botsoglou, N.A., 2002. Occurrence of aflatoxin M1 in raw and market milk commercialized in Greece. **Food Addit. Contam.**, 19, pp. 863-868.
- Salari, N., Kazeminia M., Vaisi-Raygani A., Jalali R., Mohammadi M., 2020. Aflatoxin M1 in Milk Worldwide from 1988 to 2020: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Food Quality*.
- Santini, A., Raiola, A., Ferrantelli, V., Giangrosso, G., Macaluso, A., Bognanno, M., ... & Ritieni, A., 2013. Aflatoxin M1 in raw, UHT milk and dairy products in Sicily (Italy). **Food Additives & Contaminants: Part B**, 6(3), 181-186.
- Sengun, I.Y., Yaman, D.B., Gonul, S.A., 2008. Mycotoxins and Mould Contamination in Cheese: **A Review, World Mycotoxin Journal** 1 (3), 291-298.
- Sergelidis, D. ve Abraham, A. 2009. Adaptive response of *Listeria monocytogenes* to heat and its impact on food safety. **Food Control** 20: 1–10.
- Sharma, H., Jadhav, V. J., & Garg, S. R., 2020. Aflatoxin M1 in milk in Hisar city, Haryana, India and risk assessment. **Food Additives & Contaminants: Part B**, 13(1), 59-63.
- Sifuentes dos Santos, J., França, V., Katto, S., & Santana, E. H., 2015. Aflatoxin M1 in pasteurized, UHT milk and milk powder commercialized in Londrina, Brazil and estimation of exposure. **Archivos latinoamericanos de nutricion**, 65(3), 181-185.

- Sorensen, L.K., Elbaek, T.H., 2005. Determination of mycotoxins chromatography tandem mass spectrometry. **J. Chromatogr. B**;820:183-196
- Sorrells KM, Enigl DC (1990). Effect of pH, acidulant, sodium chloride and temperature on the growth of *L. monocytogenes*. **J Food Safety**, 11, 31-37.
- Şahin, H. Z., Celik, M., Kotay, S., & Kabak, B., 2016. Aflatoxins in dairy cow feed, raw milk and milk products from Turkey. **Food Additives & Contaminants: Part B**, 9(2), 152-158.
- Şahin, S. ve Ayyıldız, A., 2020. Sivas İlinde Satılan Çiğ İnek ve Manda Sütlerinde *Listeria* spp. Varlığının Araştırılması. **Kocatepe Veterinary Journal**, 13 (1) , 19-24.
- Şanlıbaba, P. ,Uymaz Tezel, B., 2018. Prevalence and characterization of *Listeria* species from raw milk and dairy products from Çanakkale Province. **Turkish J Agri Food Sci Tech**. 6: 61-64.
- Şık, B., Küçükçetin, A., Yaygın, H., 2004. Physicochemical quality and occurrence of bacterial pathogens in white pickled cheese. **Milchwissenschaft**, 59: 636–637.
- Tadesse S., Berhanu T., Woldegiorgis A. Z., 2020.Aflatoxin M1 in milk and milk products marketed by local and industrial producers in Bishoftu town of Ethiopia, **Food Control**. 118: 107386.
- Tayo, G.O.,Ezekiel, C.N., Warth, B., Ogara, I.M., Abia, W.A., Ezekiel, V.C., Atehnkeng, J., Sulyok, M., Turner, P.C., Krska, R. and Bandyopadhyay, R.,2014.Mycotoxin exposure in rural residents in northern Nigeria: a pilot study using multi-urinary biomarkers. **Environment International**, 66: 138– 145.
- Tekinşen, K. K. ve Eken, H. S., 2008. Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey. **Food and Chemical Toxicology**, 46(10), 3287-3289.
- Temamoğulları, F. and Kanici, A.,2014.Short Communication:Aflatoksin M1 in dair products sold in Şanlıurfa,Turkey. **J. Dairy Sci**. 97: 162–165.
- Tiryaki, O.,Seçer, E., Temur, C., 2011. Yemlerde Mikotoksin Oluşumu, Toksisiteleri ve Mikotoksin Kalıntı Analizleri. Anadolu, **Journal of AARI**, 21(1), 44–58.
- Tonbak, F ve Demir, P.,2021.Yem ve Gıdalarla Hayatımıza Giren Aflatoksinleri Önleme Yöntemleri. **Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni**12 (2): 105-117.
- Topal, G. G., 2017.Piyasadaki farklı yoğurt türlerinin Aflatoksin M1 düzeylerinin belirlenmesi, **Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**, Ankara, 83 s.,
- Topi, D., Spahiu, J., Rexhepi, A., Marku, N.,2022.Two-year survey of aflatoxin M1 in milk marketed in Albania, and human exposure assessment,**Food Control**,Volume 136.
- Tuncay, R. M. , Sancak, Y. C.,2018. Presence of *Listeria monocytogenes* in Herby Cheese and Determination of Their Susceptibility to Antibiotics. **Van Vet J.**; 29(3): 169-173.
- Turna, N. S., Wu, F.,2021.Aflatoxin M1 in milk: A global occurrence, intake, & exposure assessment.**Trends in Food Science & Technology**:Volume 110,Pages 183-192.
- Turner, N.W., Subrahmanyam, S., Piletsky, S.A., 2009. Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. **Anal. Chim. Acta**. 632, 168– 180.
- Unusan, N. 2006. Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. **Food and Chemical Toxicology**, 44(11),1897-1900.

- Van Rensburg, S.J., Van der Watt, J.J., Purchase, I.F.H., Continho Pereira, L. and Markham, R., 1974. Primary liver cancer rate and aflatoxin intake in a high cancer area South Africa Medical 48.2508a-d.
- Var, I., Kabak, B., Özkarslı, M., 2004. Mikotoksin Aranmasında Kullanılan Analiz Yöntemleri. **Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi**, 2(11): 1-11.
- Vaz, A., Silva, A. C. C., Rodrigues, P., Venâncio, A., 2020. Detection Methods for Aflatoxin M1 in Dairy Products .Microorganisms 246.
- W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, & J. Schwartzman (Eds.), **Molecular Medical Microbiology** (Second Edition) (pp. 1345-1361). Boston: Academic Press.
- Wacoo, A.P, Wendi, D., Vuzi, P.C. and Hawumba, J.F., 2014. Methods for Detection of Aflatoxins in Agricultural Food Crops Article ID 706291, Pp. 15.
- Wang, Y., Liu, X., Xiao, C., Wang, Z., Wang, J., Xiao, H., Cui, L., Xiang, Q., & Yue, T., 2012. HPLC determination of aflatoxin M1 in liquid Milk and Milk powder using solid phase extraction on OASIS HLB. **Food Control**, 28(1), 131–13.
- World Health Organization (WHO), 2018. Listeriosis - South Africa. <http://www.who.int/csr/don/28-march-2018-listeriosis-south-africa/en/> Erişim tarihi: 21.03.2022.
- World Health Organization (WHO), 2015. Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group 2007-2015. https://apps.who.int/handle/9789241565165_eng . Erişim tarihi: 27.04.2022.
- Wu, C., Liu, D., Peng, T., Shan, D., Zhang, G., Xiong, Y. and Lai, W., 2016. Development of a one-step immunochromatographic assay with two cutoff values of aflatoxin M1. **Food Control** 63:11-14.
- Xiong, J., Wen, D., Zhou, H., Chen, R., Wang, H., Wang, C., Wu, Z., Qiu, Y., Wu, L., 2022. Occurrence of aflatoxin M1 in yogurt and milk in central-eastern China and the risk of exposure in milk consumers, **Food Control**, Volume 137.
- Yavuz, M. ve Korukluoğlu, M., 2010, *Listeria monocytogenes*' in gıdalardaki önemi ve insan sağlığı üzerine etkileri. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 24(1), 1-10.
- Yeşil, Ö. F., Hatipoğlu, A., Yıldız, A., Vural, A., Erkan, M. E., 2018. A Research on the Determination of Aflatoxin M1 Levels in Milk and Dairy Products for Sale in Diyarbakır by ELISA. **Erzincan University Journal of Science and Technology** 2019, 12(1), 479-488.