

**ERZURUM YÖRESİNDE TÜKETİME SUNULAN YUMURTALARDA
BAKTERİ VE AFLATOKSİN SALGILAYABİLEN MANTAR
ARAŞTIRILMASI YÖNÜNDEN BİR ÇALIŞMA.**

Dr. Selahattin ÇELEBİ (x)
Dr. Selahattin LELOĞLU xx
Dr. Mete BABACAN xx

ÖZET

Çalışmamızda Erzurum ve çevre köylerden topladığımız 278 köy ve 181 çiftlik yumurtası olmak üzere toplam 459 yumurtada kültür yöntemi ve mikroskopik inceleme ile bakteri, mantar bulunup bulunmadığı araştırıldı. Tesbit edilen mantarların aflatoksin salgılayıp salgılamadığını ince tabaka kromotografi, yöntemi ile saptadık. Elde ettiğimiz sonuçları bu konudaki diğer çalışmalarla ve incelediğimiz yumurtaları çiftlik ve köy kökenli, olmalarını göz önüne alarak bu yönde tartıştık.

GİRİŞ

Temel gıda maddeleri üzerinde, üretimin başlangıcından tüketildikleri zamana kadar, uygun koşullar olduğu halde, çeşitli bakteri ve mantarlar yerleşip besinde istenmeyen bozulma ve değişikliklere neden olabilmektedirler.

Asıl önemli olanı kuf grubu mantarların meydana getirdikleri ve metabolizma ürünleri olan toksinlerdir.

Toksinlerden insan ve hayvan organizması için daha fazla patojen olan Aflatoksinler, akut, subakut ve kronik zehirlenmelere yol açtığı gibi karsinojenik etkiye sahiptirler. Mantarların metabolik ürünü olan aflatoksinlerle ilgili bilimsel çalışmalar çok yeni sayılır (1-5). İngilterede bir tavuk çiftliğinde çıkan yüz bin hindi ve on bin ördek yavrusunun ölümü ile sonuçlanan olayın incelenmesi sonucu bunun bir zehirlenme olduğu ve aspergillusla kontamine yemlerde biriken aflatoksinle olduğu saptanmıştır (2,5). Tayland'lı çocuklarda görülen ve klinik olarak, ateş, lenfositoz, ishal, kusma, konvülsiyon ile karakterize olan ve histopa-

x : Atatürk Üniv. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Uz. Dr.

xx : Atatürk Üniversitesi Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr.

tolojik incelemede kalp, böbrek ve karaciğerde yağlanma, sinir dejenerasyonu ve beyin ödemi gösteren "Reye sendrome"unun *Macacus türü* maymunlarda aflatoksinlerin sebep olduğu tabloya çok benzediğinin gözlenmesi nedeniyle' aflatoksinlerden ileri gejdği düşünülmüştür. Nitekim bu yöne yönelik çalışmalar sonucu Reye Sendromu görülen Tayland'lı çocukların karaciğer ve beyinlerinde Aflatoksin tesbit edilmiştir (6-9). Aflatoksinler sıçan, ördek ve bazı balıklarda, deri kar-sinomuna neden olduğu gözlenmiştir. (1-5) Küflü gıda yeme alışkanlığı olan Afrika, Hindistan, Güney Doğu Asya-Ülkeleri gib ibölge halklarında karaciğer kanserinin sıklıkla görülmesi nedeniyle bunların etiyojilerinde aflatoksinlerin rolü olabile-ceği düşünülmüştür (9-10,11).

YÖNTEM

Erzurum ve yöresinde topladığımız 459 adet yumurtada (181 çiftlik, 278 adeti köy yumurtası) bakteri izolasyonu için örnekler kanlı agara ve EMB ağara ekildi. Ekimden önce yumurta yüzeyi dezenfektan madde ile temizlendikten sonra steril koşullar altında özel yumurta-delicisiyle delinerek enjektör ve iğne ile mater-yal alındı. Kırksekiz saat 37°C etüvde inkübasyona bırakıldı. Üreyen bakteriler üç şekerli agar, indol, mannit, üreaz, sitrat ve hareket besiyerlerine ekilerek bu besiyelerinde üreme ve biokimyasal etkilerine göre idantifikasyonları yapıldı.

Aflatoksin araştırmak için, Jones (12) , Stack ve Pohlnd (13) ın uygulaması olduğu ince tabaka kromktografi (TLC) yönteminin değişik bir şekli uygulandı. Şöyleki: 20 gr. silica jel 40 ml. steril distile su içerisinde homojen bir bulamaç haline getirildi. Daha sonra bu sıvı, ince tabaka kromatografi yayıcısı kullanılarak cam plaklara (20 x 20x0,5 cm), 350 mikrometre kalınlığında yayıldı. Plaklar oda ısısında kurutulduktan sora nemlerinin giderilmesi için 70°C'lik pastör fırınında bir saat bekletildi. Kullanılmayan plaklar, içinde nem giderici olarak silisyum dioksit bulunan özel tanklarda saklandı.

Mantar üreyen sıvı saboraaud besiyerleri sekiz gün bekledikten sonra pastör pipeti ile bu besiyerlerinden bir miktarı sıvı alınarak silicagel tabakası üzerine yaklaşık olarak 0,5 ml. kadar damlatıldı. Numunelerin uygulandığı kısmın merke-zî cam plakların alt kenarlarından dört santimetre, yan kenarlarından ise 2,5 santimetre uzaklıkta ve altkenara paralel bir hat üzerinde olacak şekilde ve ikişer santimetre aralıklarla yapıldı. Daha sonra methanol ve chloroform (97+3) karışımı bulunan solvent tankına dikey olarak ve örnekler alta olacak şekilde yerleştirildi. Örneklerin direk olarak solvëntle temas etmemesi için solvent yüksekliği, 2,5-3 santimetre kadar olmalıdır. Yani numunelerin uygulandığı kısımdan en az bir san-timetre kadar aşağıda olmalıdır. Yürütücü sıvı plak, yüksekliğinin 3/4 olan (yakla-şık 15 cm.) front çizgisine ulaşınca kadar plaklar bu sıvı içinde bekletildi. Bu sü-re yaklaşık olarak 90-120 dakikadır. Solvent ilerlerken buharlaşmayı önlemek için tankın ağzı sıkıca kapatılırken ışıktan korumak içinde üzeri ışığı geçirmeyen bir ta-

baka ile örtüldü. Solvent front çizgisine yükselince plaklar tanktan çıkarılarak karanlık odada kurtuldu, daha sonra ultraviole lambasının uzun dalga boyu (365 nm) ışığı altında incelendi. Ultraviole lambasının altındk mavi ve yeşil floresans veren kısımların aflatoksin oldukları bunlardan yeşil olanların aflatoksin G mavi olanların ise aflatoksin B olabilecekleri düşünüldü. Ayrıca mavi ve yeşil floresans veren bölgelerin merkezinin örneğin uygulandığı yere olan uzaklığı ölçülerek front mesafesiyle oranlanarak Rf değerleri saptandı.

$$R_f = \frac{\text{Yürüme Uzaklığı (cm)}}{\text{Front uzaklığı (cm)}}$$

Ultraviole ışığı ile incelenen vemavi yada yeşil floresans veren bölgelerin gerçekten aflatoksin olup, olmadığını anlamak için doğrulama deneyi yapıldı.

Bu amaçla % 25'lik H₂ SO₄ çözeltisinden cam spreyle 25-30. uzaklıktan cam plakların mavi ve yeşil floresans veren bölgelerine püskürtüldü. Tekrar karanlık odada kurutularak UV ışığı altında incelendi. Daha önce mavi ve yeşil floresans veren bölgelerin budefa sarıya dönüşmüş olmasıyla bu bölgelerde aflatoksin bulunduğu, rengin değişmemesiyle de aflatoksin olmadığına karar verildi.

BULGULAR

1- İncelediğimiz 459 yumurtanın 90 (% 19.60)'ında bakteri, 23 (% 5.00)'ünde ise mantar üretilirken 346 (% 75.40) -nda üreme olmadı.

2- Köy yumurtalarından 69 (% 24.82) bakteri, 18 (% 6.47) mantar üretilirken çiftlik yumurtalarının 21 (% 11.60) inde bakteri, 5 (% 2.76)'inde ise mantar üretili.

3- E. Coli ve staphylococcuslar köy yumurtalarında 18 (% 6.47) Çiftlik yumurtalarında 7 (% 3.86) ve 4 (% 2.20)'ünde.

4- Köy yumurtalarının 13 (% 4.67)'ünde, pseudomonas, 11 (% 3.95) inde proteus, 8 (% 2.87) inde bacillus, 1(% 0.35) inde sarsinia.

5- Çiftlik yumurtalarını 6 (% 3.31)'ında proteus, 3 (% 1.64) ünde pseudomonas 1 (% 0.55)'inde bacillus.

6- 278 köy yumurtasının, penicillium 11 (% 2.87) mucor 5 (% 1.79) aspergillus 2 (% 0.72) sinde,

7- 181 Çiftlik yumurtasının penicillium 4 (% 2.20), mucer 1(% 0.55)'inde köy yumurtalarından üretilen penicillium ların 7 (63.63) aspergillusların 1 (% 50.00)'inde,

8- Çiftlik yumurtlarından üretilen penicilliumların 2(% 50.00) sinde aflatoksin tesbit edildi.

TARTIŞMA

Her iki inceleme grubu (köy-çiftlik) yumurtalarında saptanan aflatoksin sayı ve yüzdesi hijyen koşullarına uyulup uyulmadığını göstermesi açısından herhangi bir bilgi veremez. Çünkü hijyen koşullarına uyulup uyulmadığını ancak üretilen bakteri ve mantarın sayı ve yüzdesi göstermektedir. Bulaşan mantarların aflatoksin salgılayıp salgılamadığını ise başlı başına ayrı bir sorundur. Örneğin mucorların aflatoksin salgılamadığını gördüğümüzde mucorla bulaşlı yumurtaların sağlığa uygun koşullarda olduğunu ve hatta iyi saklandığını söyleyemeyiz. Mucor'unda diğer küf grubu mantarlar gibi üreyip çoğalması için yer ve zamana ihtiyacı vardır. Bu nedenlerle örneklerde üreyen her mantarın bir aflatoksin kaynağı olabileceğini kabul etmek daha doğru olacaktır.

Bakteri ve mantarlar kontamine ettiği besinlerin besin değerini bozarak-yurt ekonomisine büyük zararlar vermeleri yanısıra insan sağlığı yönünden önemli sorunlar yaratmaktadırlar. Bakteriler endo ve ekzo toksinleri ile toksik gastroenteritler oluştururlar (14,15).

Besinler üzerine kontamine olan bazı bakteriler bulundukları ortama salgıladıkları ekzotoksinleri ile besin zehirlenmeleri yapmaktadırlar. Bunlardan bizim de her iki orijinli yumurtalardan yüksek oranda izole ettiğimiz staphylococcus'ların, ısıya dirençli olan enterotoksinler konunun önemini bir kere daha artırmaktadır. E. coli, proteus ve parakolon bakterilerle bulaşlı olan et, süt, yumurta gibi besinler üzerinde bu bakterilerin üreme olanağı bulduklarında, bu besinlerin pişirilmesi esnasında oluşan ve termostabil olan endotoksinlerin yenmesi ile bir gastroenterit oluşmaktadır. (16,17). Küflerin insanlara zararı, serbest veya gıdalarla direkt bulaşlara veya salgıladıkları toksinlerle olmak üzere iki şekilde olmaktadır.

Aflatoksinlerin civcivler ve embriyo, için latent latal dozlarıyla ilgili araştırmalar pek çoktur. Halkın günlük tükettiği gıda maddelerinde (süt, bulgur, un vb.) aflatoksin araştırmasıyla ilgili çalışmalar dünyanın hertarafında yaygın bir şekilde devam etmektedir (18). Günlük tüketim yiyecekleri arasında bulunan yumurtalarda yaptığımız bu çalışma sonunda bu tip gıdalarda da aspergillus ve penicillium üremesi, bunlarında aflatoksin salgılanması konunun önemini ciddi bir şekilde ortaya koymaktadır.

Bakteri, mantar ve aflatoksin bulunma oranının köy yumurtalarında yüksek olması, köy yumurtalarıyla beslenen kişilerin diğerlerine göre daha fazla patolojik etkilere maruz kalacağını göstermektedir.

Küf grubu mantarların saprofit olarak her yerde bulunması ve bunların arasında en fazla üreme olanağı bulun penicillium ve aspergillusun aflatoksin salgılayan mantarlar olması nedeniyle, yumurta üretiminde ve saklanması, bu tip mantarların yaşam koşulları ortadan kaldırılmalıdır. Araştırma sonuçlarımız

göstermiştir ki, yurdumuzda gıda ürünleri, üretme, saklama, işleme ve taşınma sırasında çeşitli türden bakteri ve mantar üretmekte ve bunların toksik metabolitleri ile zararlı hale gelmektedir. Bu durumu önlemek için bakteri ve fungus gelişmesine engel olarak ve aflatoxin oluşmasını engellemek, yada oluşan aflatoxini çeşitli yollarda tahrip veya uzaklaştırmak gerekir.

Yine araştırmamızın sonuçlarına bakıldığında yumurtalar çiftliklerde olduğu gibi ve daha temiz, kuru bir ortamda ve hijyen koşullarında üretilip, depolanma ve nakliye nemsiz ve ışsız ortamda yapılırsa sorun büyük ölçüde çözülmüş olur.

Toplumumuzun daha sonra düzeltilmesi mümkün olmayan patolojik ve ekonomik zararlara uğramasını önlemek için, halkın uyarılması ve onların bu konuda eğitilerek dikkatli olmalarının sağlanması, diğer taraftan da yetkili tüm devlet kuruluşlarının konuya eğilerek gıda maddelerinde bakteri ve mantar üremesine neden olacak kirlilik, rütubet, ısı, etmenlerinin ortadan kaldırılması için gerekli tedbirleri almaları, gıda üretiminde, nakliyesinde ve depolanmasında daha teknik ve modern yöntemlerin uygulanması yoluna gidilmesi ve bu konuda sık kontroller yapılarak kurallara uymayanların uyarılması gerekmektedir.

A STUDY RESEARCHİNG BACTERİA AND FUNGİ THAT ARE ABLE TO SECRETE AFLATOXİN IN COLLECTED EGGS FROM ENVİRO-MENT OF ERZURUM.

SUMMARY

In this study, 459-eggs. collected from several-villages and farms in Erzurum were tested for the bacteria and fungi

Microscopic examinations and cultures were done from the eggs for the purpose. Additionally, aspergillus strains which have been isolated were researched if they were able to secrete aflatoxine or not. Thin layer-Chromatography method was applied for the toxin determining.

The results obtained were discussed and compared with the other studies.

KAYNAKLAR

- 1- Ciegler' A: Mycotoxine, occurrence, chemistry, biological activity. Loydia, 38 (1): 21, 1975.
- 2- Dickens, F.: Jones, H.E.H.: The Carcinogenic action of aflatoxin after its subcutaneous injection in the rat. Brit. J. Cancer, 17: 691 (1963).
- 3- Lopez, A: Aflatoxin-Content of ground nuts human consumption in Uganda, Lancet, 11, 1351 (1967).

- 4- Marthe, M.: Aflatoksin and mycotoxins in agricultural products. 7. Milk food Tech. 30 192 (1967).
- 5- Wormall, A. Aflatoxins. Lancet 1: 1090 (1964).
- 6- Baugacis, C.H., Shank, R.C., Grossman, R.E., Johnsen, D.O., Vooding, W.L., and dechanvavimol, R. Acute aflatoxin B₁ toxicity in the macaque and its similarities to Reye's syndrome. Lab. Invest. 24: 206, 1971.
- 7- Shang, R.C., Bourgeois, C.R., Kesohamras, N. and Chandavimol, P.: Aflatoxin in autopsy specimens from Thai children with acute disease of unknown etiology. Food Cosmet. Toxicol. 9. 501, 1971.
- 8- Shank, R.C., Wogan, G.N. and Gibson, J.B.: Dietary aflatoxin and human liver cancer. 1. Toxicogenic moulds in foods and foodstuffs of tropical Asia-east. Food Cosmet. Toxicol. 110: 51, 1971.
- 9- Shank, R.C., Wogan, G.N., Gibson, J.B. and Nondasuta, A.: Dietary aflatoxins and human liver cancer. 11. Aflatoxins in Market Food. foodstuffs of Thailand and Rongkonk, Food, Cosmet. Toxicol. 10: 61, 1972.
- 10- Alpert, M.E., Hutt, M.S.R., and Davitson, C.S.: Hepatoma in Uganda. Lancet, 1265, 1968.
- 11- Shank, R.C., Bhamarapravati, N., Goorden J.S. and Wogan, G.N. Dietary aflatoxins and human liver cancer. IV. Incidence of primary cancer in two municipal populations of Thailand, Food Cosmet. Toxicol. 10: 71, 1972.
- 12- Jones, B.D. : Methods of aflatoxin analysis. Tropical Products Institute, London. 1972.
- 13- Stack, M.E. and Pohland, A.E.: Collaborative study of a method for chemical confirmation of the identity of aflatoxin. Journal. of the A.O.A.C. 58: 110-113, 1975.
- 14- Denizel, T. ve Köşker, Ö.: A mycological survey of various kinds of edible nuts commercially to mycotoxins.
- 15- Karahan, O., Güvener, A., Dünder, F., Dinç, N., Biçici, M., Çakır B., Bilgin, A.: Fındık, Antep fıstığı ve yer fıstığı mahsüllerinde aflatoxin oluşturan etmenler ve oluşumunu etkileyen faktörler ile buna karşı alınacak korunma tedbirlerinin tesbiti üzerine araştırmalar. Ortak proje sonuç raporu, 1975.
- 16- Onul. M.: Sistemik infeksiyon Hastalıkları, Ayyıldız Matbaası A.Ş. Z. Basıkı, S: 422, Ankara, 1983.
- 17- Hoeprich, P.D.: Infectious Diseases, Harper and Row, Publishers pp: 485-490, 635-637, Philadelphia, 1983.
- 18- Ayyıldız, A., Çelebi, S., Tuncel, E. Erzurum Yöresinde satılan çeşitli gıda maddelerinde aflatoxin araştırması. Kükem Dergisi 8: 47-50. 1985.