

## تعیین میزان آلودگی شیر مادر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شهر اصفهان

دکتر عباس جعفریان دهکردی<sup>۱</sup>، نسیم پوررادی<sup>۲</sup>

### چکیده

**مقدمه:** آفلاتوکسین‌ها ترکیبات به شدت سمی هستند که موجب سرکوب سیستم ایمنی، سرطان‌زایی، موتاژنی و ناقص‌الخلقه‌زایی می‌شوند. این مطالعه با هدف بررسی میزان آلودگی شیر مادر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شهر اصفهان صورت گرفت. از آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر مادر به عنوان بیومارکری برای شناسایی تماس مادر با آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در جیره‌ی غذایی روزانه استفاده شد.

**روش‌ها:** نمونه‌های مورد مطالعه به صورت تصادفی از بین ۸۰ مادر شیرده مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی شهر اصفهان، که کودکان آن‌ها تنها شیر مادرخواران ۲-۴ ماهه بودند، انتخاب گردیدند. اطلاعات مربوط به مشخصات فردی و آنتروپومتریک و ۲۴ ساعت یادآمد غذایی از مادران شیرده به دست آمد. نمونه‌ها با روش ELISA مستقیم رقابتی مورد آنالیز قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** شیوع آلودگی آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در مادران اصفهانی ۱/۲۵ درصد بود. آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر یکی از مادران به میزان ۶/۸۸ نانوگرم در لیتر بود. آزمون آماری  $\chi^2$  نشان داد مصرف سوسیس در مادر با شیر آلوده نسبت به مادران با شیر سالم به طور معنی‌داری بیشتر بود ( $P < 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به اهمیت تغذیه‌ی مادر در دوران شیردهی و همچنین تأثیر آفلاتوکسین‌ها به عنوان یکی از عوامل خطرزا برای رشد شیرخواران، توجه به مصرف رژیم غذایی مغذی، سالم و عاری از آلودگی با آفلاتوکسین‌ها توسط مادر شیرده ضروری به نظر می‌رسد.

**واژگان کلیدی:** آفلاتوکسین M<sub>1</sub>، شیر مادر، تغذیه‌ی مادر، ELISA

### مقدمه

دوران شیرخوارگی از لحاظ تغذیه‌ای، دوره‌ای حیاتی در زندگی فرد است؛ چرا که در هیچ دوران دیگری، یک غذای منفرد، منبع تغذیه‌ای فرد نمی‌باشد (۱).

شیر مادر یک منبع غذایی ایده‌آل برای رشد و نمو مطلوب کودک است و علاوه بر تأمین تمام نیازهای تغذیه‌ای کودک تا ۶ ماهگی باعث حفظ سلامتی کودک و مادر نیز می‌شود (۲). شیر مادر مواد غیر مغذی، مانند فاکتورهای رشد و ایمنی و نیز هورمون‌ها، را تأمین می‌کند که در دوران شیرخوارگی و سال‌های بعد، کودک را در برابر بیماری‌ها محافظت

می‌نمایند (۳). کیفیت شیر مادر بستگی به سلامت مادر، غذای دریافتی مادر، میزان استرس و داروهای مختلف مصرفی توسط او دارد. مواد شیمیایی زیادی در شیر مادر شناسایی شده‌اند که ناشی از مواجهه‌ی رژیم غذایی مادر با این آلوده کننده‌ها است (۴). در واقع هر ماده‌ای که به طور غیر طبیعی و یا در غلظت بیش از حد طبیعی در شیر مادر وجود داشته باشد، یک ماده‌ی آلوده کننده‌ی شیر محسوب می‌شود (۵). آفلاتوکسین M<sub>1</sub> یکی از آلوده کننده‌ها است که نه تنها در شیر خشک مصرفی کودکان وجود دارد (۶-۸)، بلکه در شیر مادران در برخی از کشورها نیز گزارش

<sup>۱</sup> استاد، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

<sup>۲</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم

پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤل: نسیم پوررادی

Email: n.pourradi@gmail.com

شده است (۹-۱۰).

آفلاتوکسین‌ها جزء مایکوتوکسین‌ها می‌باشند که به طور عمده توسط قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیٹیکوس، آسپرژیلوس نومینوس تولید می‌شوند. این قارچ‌ها آلوده کننده‌های مواد غذایی به ویژه در مناطق گرمسیری هستند (۱۱-۱۲).

محصولات کشاورزی ممکن است به وسیله‌ی یک یا هر چهار گونه‌ی آفلاتوکسین  $G_1$ ،  $B_1$ ،  $G_2$  و  $B_2$  آلوده شوند. آفلاتوکسین  $B_1$ ، قوی‌ترین سم در بین آفلاتوکسین‌ها محسوب می‌شود. آفلاتوکسین  $M_1$  مشتق ۴-هیدروکسیله‌ی آفلاتوکسین  $B_1$  است که در نتیجه فعالیت‌های آنزیمی سیتوکروم P450 در کبد ایجاد می‌شود (۱۱، ۱۳). آفلاتوکسین  $M_1$  ۱۲-۲۴ ساعت پس از دریافت اولین جیره‌ی غذایی آلوده به آفلاتوکسین  $B_1$  از قبیل غلات، حبوبات، شیر، لبنیات، گوشت قرمز، سفید، روغن ذرت و آجیل در شیر مادر قابل شناسایی است. پس از قطع جیره‌ی غذایی، آفلاتوکسین  $M_1$  در شیر به سرعت کاهش پیدا می‌کند و پس از گذشت سه روز قابل ردیابی نمی‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد میان دریافت آفلاتوکسین  $B_1$  و ترشح آفلاتوکسین  $M_1$  یک رابطه‌ی خطی وجود داشته باشد (۱۴).

ظرفیت تبدیل بیولوژیک در نوزادان آهسته‌تر از بزرگسالان است و این امر باعث می‌شود کودکان مواجهه‌ی بیشتری با سموم داشته باشند (۱۵). مواجهه با سم آفلاتوکسین تأثیر معنی‌داری در کاهش ایمنی، تغییر وضعیت تغذیه و شاخص‌های تن‌سنجی کودکان شیرخوار داشته است. همچنین کاهش وزن‌گیری، از دست دادن اشتها و رشد کم از اثرات مواجهه با این سم می‌باشد (۱۶). تغذیه‌ی سالم مادر در دوران

شیردهی از اهمیت بسیاری برخوردار است و با توجه به نتایج آخرین بررسی کشوری، ۵۹/۱ درصد کودکان زیر ۴ ماه شهر اصفهان از شیر مادر تغذیه می‌شوند (۱۷)، بنابراین بررسی آلودگی شیر مادر به سم آفلاتوکسین برای حفظ سلامت کودکان و مادران امری ضروری به نظر می‌رسد.

### روش‌ها

در این پژوهش ۸۰ نفر مادر شیرده مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی شهر اصفهان که دارای کودک Full term ۲-۴ ماهه با وزن طبیعی در هنگام تولد که تنها شیر مادرخوار بودند، مورد مطالعه قرار گرفتند. زنان مورد مطالعه مبتلا به بیماری مزمن نبودند و موافق شرکت در مطالعه بودند و پس از تکمیل فرم رضایت‌نامه‌ی کتبی وارد مطالعه شدند.

برای هر فرد سه پرسش‌نامه شامل خصوصیات فردی، آنتروپومتریک و پرسش‌نامه‌ی عادات غذایی و ۲۴ ساعت یادامد غذایی تکمیل گردید. ۱۵-۱۰ میلی‌لیتر نمونه از شیر مادر قبل از ظهر و پیش از تغذیه‌ی شیرخوار توسط مادر جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در فریزر ۱۸- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. از بین روش‌های موجود اندازه‌گیری آفلاتوکسین  $M_1$  در شیر، روش ELISA مورد استفاده قرار گرفت. کیت‌های مورد استفاده در این تست توسط شرکت R-Biopharm ( Art No. R1111) در آلمان ساخته شده است و از انواع ELISA مستقیم رقابتی محسوب می‌شود.

در مرحله‌ی نخست نمونه‌های شیر در دمای آزمایشگاه از حالت انجماد خارج گردید. سپس در دمای ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در

## یافته‌ها

مشخصات تن‌سنجی مادران شیرده و شیرخواران در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. مشخصات تن‌سنجی مادران شیرده و کودکان شیرخوار مورد مطالعه

مشخصات تن‌سنجی	انحراف معیار ± میانگین
سن مادر (سال)	۲۸/۴۵ ± ۴/۶
وزن مادر (کیلوگرم)	۶۶/۸۱ ± ۱۳
قد مادر (سانتی‌متر)	۱۶ ± ۴
شاخص توده‌ی بدنی مادر (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۵/۸۹ ± ۵
وزن زمان تولد شیرخوار (کیلوگرم)	۳/۱۸ ± ۴
وزن شیرخوار در زمان مطالعه (کیلوگرم)	۵/۹ ± ۱
قد شیرخوار (سانتی‌متر)	۶۰ ± ۵
دور سر شیرخوار (سانتی‌متر)	۳۹ ± ۲

همان‌طور که ملاحظه می‌شود میانگین شاخص توده‌ی بدنی در مادران مورد مطالعه در محدوده‌ی اضافه وزن بود. مقدار جذب استانداردهای آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در طول موج ۴۵۰ نانومتر در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲. نتایج اندازه‌گیری مقدار جذب استانداردهای AFM<sub>1</sub> در طول موج ۴۵۰ نانومتر به روش ELISA رقابتی

نمونه	غلظت (نانوگرم در لیتر)	مقدار جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر
استاندارد AFM <sub>1</sub>	۵	۸۳/۹۵ ± ۴
استاندارد AFM <sub>1</sub>	۱۰	۷۰/۵۸ ± ۴
استاندارد AFM <sub>1</sub>	۲۰	۶۰/۹۱ ± ۲
استاندارد AFM <sub>1</sub>	۴۰	۴۵/۵۶ ± ۱
استاندارد AFM <sub>1</sub>	۸۰	۳۴/۰۷ ± ۱
نمونه‌ی شماره‌ی ۱۳	۶/۸	۸۰/۰۶

بر اساس نتایج مطالعه، غلظت آفلاتوکسین M<sub>1</sub> و مقدار جذب با هم رابطه‌ی معکوس داشتند؛ به طوری

سانتریفوژ یخچال‌دار با سرعت ۴۰۰۰ دور قرار داده شد. لایه‌ی چربی بالایی خارج گردید و مایع زیرین (Skimmed milk) برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ نانوگرم در لیتر و نمونه‌های مورد آزمایش به چاهک‌ها اضافه شدند و در محلی دور از نور به مدت نیم ساعت در دمای ۲۵-۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. درون هر یک از چاهک‌ها ۳۰۰ میکرولیتر آب مقطر ریخته شد و سپس میکروپلیت‌ها به صورت وارونه روی چند لایه دستمال کاغذی قرار داده شدند تا به طور کامل باقی مانده‌ی آب مقطر تخلیه گردد. ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم کونژوگه با سم آفلاتوکسین M<sub>1</sub> وارد حفره‌ها شد و در محلی دور از نور به مدت ۱۵ دقیقه، در دمای ۲۵-۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوباسیون انجام شد.

جهت پاکسازی آنتی‌ژن‌های کونژوگه که با آنزیم در واکنش شرکت نکرده بودند، شستشوی مجدد صورت گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر سوپسترا و کروموژن به حفره‌ها اضافه شد و در محلی دور از نور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. به هر یک از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از محلول اسیدی قطع واکنش اضافه شد که در نتیجه واکنش میان آنتی‌ژن-آنتی‌بادی، سوپسترا و کروموژن متوقف گردید و رنگ آبی موجود بلافاصله به رنگ زرد تغییر پیدا کرد. در مرحله‌ی آخر میکروپلیت‌ها در جایگاه مخصوص دستگاه ELISA قرار داده شد و دستگاه برای قرائت مقدار آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در طول موج ۴۵۰ نانومتر تنظیم شد. در نهایت با استفاده از رسم منحنی بر اساس غلظت‌های مختلف استاندارد و مقایسه‌ی آن‌ها مقدار نهایی آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در هر یک از چاهک‌ها به دست آمد.

تکرر مصرف در مادر با شیر آلوده، شیر پاستوریزه، آجیل و سوسیس بود که در مقایسه با مصرف این مواد در مادران با شیر سالم اختلافی در تکرر مصرف شیر پاستوریزه و آجیل وجود نداشت ( $P > 0.05$ )؛ ولی تکرر مصرف سوسیس در مادر با شیر آلوده نسبت به مادران با شیر سالم به طور معنی‌داری بیشتر بود.

### بحث

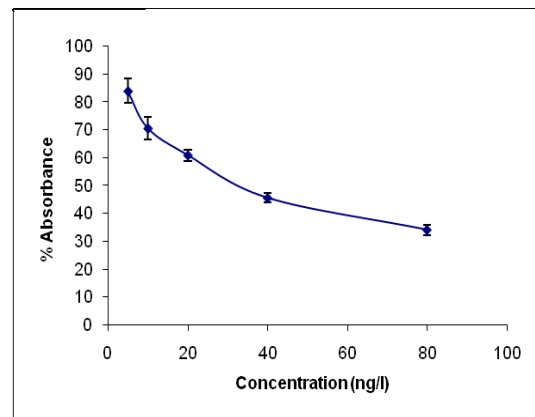
اگر چه آفلاتوکسین M<sub>1</sub> ۱۰ برابر کمتر از آفلاتوکسین B<sub>1</sub> خاصیت سرطان‌زایی و موتاژنی دارد، این سم توسط آژانس بین‌المللی تحقیق بر روی سرطان در گروه 2B طبقه‌بندی شده است (۲۰-۱۸). کمیسیون اروپا حد مجاز آفلاتوکسین M<sub>1</sub> را در شیر و فرآورده‌های لبنی ۵۰ نانوگرم در کیلوگرم و در شیر خشک و غذای مخصوص کودک ۲۵ نانوگرم در کیلوگرم اعلام نموده است (۱۱).

آفلاتوکسین‌ها اختلالاتی از قبیل هپاتیت، فیروز کبدی، کارسینوما هیپاتوسلولار و سندروم Reye's ایجاد می‌کنند (۲۲-۲۱). مواجهه‌ی مستقیم با آفلاتوکسین‌ها باعث اثرات سوء ایمنی و اختلال در متابولیسم پروتئین‌ها و ریزمغذی‌های مختلف می‌شود (۲۳). آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر مادر به عنوان بیومارکری برای شناسایی تماس مادر با آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در جیره‌ی غذایی روزانه کاربرد دارد (۲۲).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که فقط یک نمونه‌ی شیر مادر آلوده به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> به میزان ۶/۸ نانوگرم در لیتر بود. به نظر می‌آید تفاوت در نوع غذای مصرفی و همچنین عادات متفاوت عامل آلودگی در نمونه‌ی شیر یکی از مادران بود.

نتایج مطالعه‌ی در شهر اهواز که توسط حیدری‌نیا

که با افزایش غلظت آفلاتوکسین M<sub>1</sub>، مقدار جذب در طول موج مذکور کاهش یافته بود. مقدار جذب نمونه‌ی ۱۳ در طول موج ۴۵۰ نانومتر، ۸۰/۰۶ بود که با توجه به منحنی استاندارد آفلاتوکسین M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>)، غلظت آن ۶/۸ نانوگرم در لیتر گزارش شد (شکل ۱).



شکل ۱. منحنی استاندارد آفلاتوکسین M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) در طول موج ۴۵۰ نانومتر

مصرف روزانه‌ی مواد غذایی پر مصرف در مادران با شیر آلوده (۱ نفر) و سالم (۷۹ نفر) در مراکز مورد مطالعه در شهر اصفهان در جدول ۳ مقایسه شده است.

جدول ۳. مقایسه‌ی مصرف مواد غذایی پر مصرف (روزانه) در مادران با شیر آلوده و سالم در مراکز مورد مطالعه

اقلام غذایی	مادران با شیر آلوده		مادران با شیر سالم	
	تعداد (درصد)	مقدار P	تعداد (درصد)	مقدار P
شیر پاستوریزه	۱ (۱۰۰)		۱۴ (۱۷/۸)	۰/۱۱۶
آجیل	۱ (۱۰۰)		۱۶ (۲۰/۲)	۰/۶۲۴
سوسیس	۱ (۱۰۰)		۰ (۰)	< ۰/۰۰۱

آزمون آماری  $\chi^2$  نشان داد که پر مصرف‌ترین اقلام غذایی از ۱۵ ماده‌ی غذایی موجود در پرسش‌نامه‌ی

فرانسه (۲۹) و انگلستان هیچ گونه آلودگی در شیر مادر گزارش نشد (۳۰).

در مطالعه‌ی انجام یافته در ایتالیا توسط Turconi و همکاران بر روی ۲۳۱ زن شیرده نیز نشان داد که فقط یک نمونه آلوده به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> به میزان ۱۹۴ پیکوگرم در میلی‌لیتر و آفلاتوکسین B<sub>1</sub> به میزان ۱۱/۴ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود (۳۱).

همچنین مطالعه‌ای در استرالیا که توسط El-Nezami و همکاران بر روی آلودگی شیر ۷۳ زن شیرده با روش ELISA و HPLC انجام شد، نشان داد که ۲۶ درصد از نمونه‌ها آلوده به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بودند. این اولین گزارش میزان بالای آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در یک کشور توسعه یافته بود که محققین، آب و هوای گرم و مرطوب و همچنین احتمال آلودگی غذاهای وارداتی را از علل میزان به نسبت بالای آلودگی در این منطقه ذکر کردند (۱۵).

به نظر می‌رسد در کشورهای توسعه یافته اجرای جدی قوانین پیش‌گیری از آلودگی محصولات کشاورزی و تولیدی به سموم آفلاتوکسین در مراحل تولید و ذخیره‌سازی و فرایند در پیش‌گیری از مواجهه‌ی انسان به سم آفلاتوکسین موفقیت‌آمیز بوده است (۱۶).

مشاهدات مطالعات قبلی نشان داد که مصرف آفلاتوکسین‌ها از طریق شیر مادر می‌تواند رشد کودکان شیرخوار را تحت تأثیر قرار دهد (۳۲). این در حالی است که در مطالعه‌ی حاضر در نظر داشتیم تأثیر آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بر متغیرهای قدی و وزنی کودکان را بررسی کنیم، ولی به دلیل این که فقط یک نمونه آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر مادران مورد مطالعه یافت شد، نتوانستیم ارتباط معنی‌داری بین آفلاتوکسین و

بر روی ۴۵ مادر شیرده به وسیله‌ی روش کروماتوگرافی لایه‌ی نازک انجام گرفت، نشان داد که ۴۵ درصد نمونه‌ها در محدوده‌ی ۱۲۵۰۰-۱۳۰۰۰ نانوگرم در لیتر آلوده به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بودند (۲۴). مطالعه‌ای توسط صادقی و همکاران در تهران با هدف بررسی میزان آلودگی شیر مادر روی ۱۶۰ نمونه انجام شد. ۱۵۷ نمونه با غلظت متوسط  $۵/۱ \pm ۸/۲$  نانوگرم در کیلوگرم آلوده به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بودند. غلظت آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در یک نمونه بیشتر از استاندارد کمیته‌ی اروپایی و غذایی Codex (۲۵) نانوگرم در لیتر) بود (۲۵).

همچنین مطالعه‌ای توسط مهدوی و همکاران در تبریز روی ۱۸۲ مادر شیرده (۹۱ نفر در تبریز، ۹۱ نفر در روستاهای حومه) انجام شد. ۲۰ نمونه از ۹۱ نمونه‌ی شیر مادران روستایی آلوده به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> با غلظت متوسط  $۰/۹۴ \pm ۶/۹۶$  نانوگرم در لیتر بودند، در حالی که نمونه‌ی شیر مادران تبریزی عاری از آفلاتوکسین M<sub>1</sub> گزارش شد (۲۶).

میزان آلودگی شیر مادر در مطالعه‌ی حاضر کمتر از میزان آلودگی شیر مادر در مطالعات انجام یافته در ایران بود و تنها یک نمونه (۱/۲۵ درصد) از شیر مادر آلوده به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> به میزان ۶/۸ نانوگرم در لیتر بود.

همکاران El-Nezami و همکاران (۱۵) و Lamplugh و همکاران (۲۷) تغییرات فصلی را در میزان و درصد آلودگی شیر مادر مهم عنوان کردند. از آن جایی که نمونه‌گیری مراکز در فصل زمستان صورت گرفته بود، بنابراین شرایط آب و هوایی در نتایج مطالعه‌ی حاضر مؤثر نبود.

نتایج مطالعات در این زمینه در کشورهای توسعه یافته متفاوت است. در مطالعات مشابه در آلمان (۲۸)،

متغیرهای قدی و وزنی کودکان برقرار کنیم.

نتایج این مطالعه نشان داد که ارتباط معنی داری بین مصرف سوسیس و آلودگی شیر مادر وجود دارد. به طور کلی آلودگی انسان به آفلاتوکسین  $M_1$  ناشی از تولید داخلی سم بعد از مصرف مواد غذایی حاوی آفلاتوکسین  $B_1$  و یا محصولات لبنی است (۹). مطالعات مختلف مواد غذایی متعددی را به عنوان منبع آلودگی شیر مادر ذکر کرده‌اند.

در مطالعه‌ی تهران مصرف غلات آلوده به آفلاتوکسین  $B_1$  (۲۵)، در مطالعه‌ی تبریز مصرف شیر محلی توسط مادران روستایی (۲۶) و در مطالعه‌ی مشابه انجام یافته در استرالیا، بادام زمینی، کره‌ی بادام زمینی و غلات فرآوری شده منبع آلودگی شیر مادر بیان شده است (۱۵).

در مطالعه‌ی ای که توسط سرهنگ پور و همکاران بر روی ۱۰۰ نمونه پسته‌ی خریداری شده از مغازه‌های شهر اصفهان انجام شد، میزان آفلاتوکسین  $B_1$ ، آفلاتوکسین  $B_2$ ، آفلاتوکسین  $G_1$  و آفلاتوکسین  $G$  موجود در پسته به ترتیب ۹۵، ۴۲، ۶۴ و ۲۸ میکروگرم در کیلوگرم بود که ۳۶ درصد نمونه‌ها بالاتر از حد مجاز قابل قبول اتحادیه‌ی اروپایی (۲۵ میکروگرم در کیلوگرم) بود (۳۳).

در مطالعه‌ی حاضر آنالیز آماری ارتباط معنی داری را بین آلودگی شیر مادر به آفلاتوکسین  $M_1$  و مصرف آجیل نشان نداد.

مطالعه‌ای که توسط رحیمی و همکاران در اصفهان و شهرکرد بر روی ۲۳۶ نمونه‌ی شیر خام، پاستوریزه و

استریلیزه انجام شد، نشان داد که ۲۱۳ نمونه حاوی آفلاتوکسین  $M_1$  با غلظت متوسط ۶/۵ و در محدوده‌ی ۲۱۸-۱۲ نانوگرم در لیتر گزارش شد (۳۴).

در مطالعه‌ی حاضر آنالیز آماری ارتباط معنی داری را بین آلودگی شیر مادر به آفلاتوکسین  $M_1$  و مصرف شیر پاستوریزه نشان نداد.

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد نمونه‌های شیر مادران در مراکز مورد مطالعه به استثنای یک مورد، آلودگی با آفلاتوکسین نداشتند. به نظر می‌رسد مصرف سوسیس در غذای مصرفی عامل آلودگی باشد. ممکن است رشد سریع، دریافت بالای آب و غذا به ازای وزن بدن و ظرفیت تبدیل بیولوژیک کند در نوزادان نسبت به بزرگسالان، موجب مواجهه‌ی بیشتر آنان با سموم شود. بنابراین اهمیت تغذیه‌ی سالم مادر در دوران شیردهی و بررسی آلودگی شیر مادر به سم آفلاتوکسین  $M_1$ ، به عنوان یکی از عوامل خطرزا برای رشد شیرخواران و حفظ سلامت کودکان و مادران، امری ضروری به نظر می‌رسد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به علت حمایت‌های مالی و همچنین مراکز بهداشتی و درمانی شهر اصفهان و مادران شرکت کننده در طرح که انجام این مطالعه بدون همکاری آن‌ها امکان‌پذیر نبود، کمال تشکر را دارند.

### References

1. Emmett PM, Rogers IS. Properties of human milk and their relationship with maternal

nutrition. Early Hum Dev 1997; 49(Suppl): S7-28.

2. Picciano MF, McDonald SS. Lactation. In: Shills ME, editor. *Modern nutrition in health and disease*. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Company; 2006. p. 784-8.
3. Hytten FE. Clinical and chemical studies in human lactation III diurnal variations in major constituents of milk. *Br Med J* 1954; 1:179-182.
4. World Health Organization. *Global strategy for infant and young child feeding: the optimal duration of exclusive breast feeding*. Geneva: WHO; 2001.
5. Somogyi A, Beck H. Nurturing and breast-feeding: exposure to chemicals in breast milk. *Environ Health Perspect* 1993; 101(Suppl 2): 45-52.
6. Chen CY, Li WJ, Peng KY. Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk powder using high-flow solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 2005; 53(22): 8474-80.
7. Oliveira CA, Germano PM, Bird C, Pinto CA. Immunochemical assessment of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk powder consumed by infants in Sao Paulo, Brazil. *Food Addit Contam* 1997; 14(1): 7-10.
8. Josephs RD, Ulberth F, Van Egmond HP, Emons H. Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk powders: processing, homogeneity and stability testing of certified reference materials. *Food Addit Contam* 2005; 22(9): 864-74.
9. Polychronaki N, Turner C, Mykkanen H, Gong Y, Amra H, Abdel-Wahhab M, et al. Determinants of aflatoxin M<sub>1</sub> in breast milk in a selected group of Egyptian mothers. *Food Addit Contam* 2006; 23(7): 700-8.
10. Saad AM, Abdelgadir AM, Moss MO. Exposure of infants to aflatoxin M<sub>1</sub> from mothers' breast milk in Abu Dhabi, UAE. *Food Addit Contam* 1995; 12(2): 255-61.
11. Cano-Sancho G, Marin S, Ramos AJ, Peris-Vicente J, Sanchis V. Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> and exposure assessment in Catalonia (Spain). *Rev Iberoam Micol* 2010; 27(3): 130-5.
12. Tchana AN, Moundipa PF, Tchouanguép FM. Aflatoxin contamination in food and body fluids in relation to malnutrition and cancer status in Cameroon. *Int J Environ Res Public Health* 2010; 7(1): 178-88.
13. Paniel N, Radoi A, Marty JL. Development of an electrochemical biosensor for the detection of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk. *Sensors (Basel)* 2010; 10(10): 9439-48.
14. Fu YM. Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and product using immuno. Affinity column and fluorescence measurements. *Journal of Food and Drug Analysis* 1996; 4(2): 175-83.
15. El-Nezami HS, Nicoletti G, Neal GE, Donohue DC, Ahokas JT. Aflatoxin M<sub>1</sub> in human breast milk samples from Victoria, Australia and Thailand. *Food Chem Toxicol* 1995; 33(3): 173-9.
16. Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am J Clin Nutr* 2004; 80(5): 1106-22.
17. Health Population, Families and Schools Office, Ministry of Health and Medical Education. *IMES National Study*. Tehran, Iran: Ministry of Health and Medical Education; 2005.
18. Lopez CE, Ramos LL, Ramadan SS, Bulacio LC. Presence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk for human consumption in Argentina. *Food Control J* 2003; 14(1): 31-4.
19. Özdemir M. Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> levels in goat milk consumed in Kilis province. *Ankara Üniv Vet Fak DergFak Derg* 2007; 54: 99-103.
20. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B<sub>1</sub> as undesirable substance in animal feed. *EFSA J* 2004; 39: 1-27.
21. Maxwell SM, Apeagyei F, de Vries HR, Mwanmut DD, Hendrickse RG. Aflatoxins in breast milk, neonatal cord blood and sera of pregnant women. *J Toxicol Toxin Rev* 1989; 8(1-2): 19-29.
22. Gurbay A, Sabuncuoglu SA, Girgin G, Sahin G, Yigit S, Yurdakok M, et al. Exposure of newborns to aflatoxin M<sub>1</sub> and B<sub>1</sub> from mothers' breast milk in Ankara, Turkey. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(1): 314-9.
23. Gong YY, Egal S, Hounsa A, Turner PC, Hall AJ, Cardwell KF, et al. Determinants of aflatoxin exposure in young children from Benin and Togo, West Africa: the critical role of weaning. *Int J Epidemiol* 2003; 32(4): 556-62.
24. Heidarinia A. *Detection of aflatoxin M<sub>1</sub> in breast milk*. [PhD Thesis]. Ahvaz: School of Medicine, Ahvaz University; 1995. [In Persian].
25. Sadeghi N, Oveisi MR, Jannat B, Hajimahmoodi M, Bonyani H, Jannat F. Incidence of aflatoxin M<sub>1</sub> in human breast milk in Tehran, Iran. *Food Control J* 2009; 20(1): 75-8.
26. Mahdavi R, Nikniaz L, Arefhosseini SR, Vahed JM. Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in breast milk samples in Tabriz-Iran. *Matern Child Health J* 2010; 14(1): 141-5.
27. Lamplugh SM, Hendrickse RG, Apeagyei F, Mwanmut DD. Aflatoxins in breast milk, neonatal cord blood, and serum of pregnant women. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1988;

- 296(6627): 968.
28. Jensen AA, Slorach SA. Chemical contaminants in human milk. Boca Raton: CRC Press Inc; 1991.
29. Wild CP, Pionneau FA, Montesano R, Mutiro CF, Chetsanga CJ. Aflatoxin detected in human breast milk by immunoassay. *Int J Cancer* 1987; 40(3): 328-33.
30. Coulter JB, Lamplugh SM, Suliman GI, Omer MI, Hendrickse RG. Aflatoxins in human breast milk. *Ann Trop Paediatr* 1984; 4(2): 61-6.
31. Turconi G, Guarcello M, Livieri C, Comizzoli S, Maccarini L, Castellazzi AM, et al. Evaluation of xenobiotics in human milk and ingestion by the newborn--an epidemiological survey in Lombardy (Northern Italy). *Eur J Nutr* 2004; 43(4): 191-7.
32. Gong YY, Cardwell K, Hounsa A, Egal S, Turner PC, Hall AJ, et al. Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Benin and Togo: cross sectional study. *BMJ* 2002; 325(7354): 20-1.
33. Sarhang pour Rs, Rasti M, Zighamian H, Garmakhani Ad. Occurrence of Aflatoxins In Pistachio Nuts In Esfahan Province of Iran. *Journal of Food Safety* 2010; 30(2): 330-40.
34. Rahimi E, Shakerian A, Jafariyan M, Ebrahimi M, Riahi M. Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw, pasteurized and UHT milk commercialized in Isfahan and Shahrekord, Iran. *Food Security J* 2009; 1(3): 317-20.



## Determination of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Breast Milk Samples in Isfahan, Iran

Abbas Jafarian Dehkordi PhD<sup>1</sup>, Nasibeh Pourradi<sup>2</sup>

### Abstract

**Background:** Aflatoxins are highly toxic, immunosuppressive, mutagenic, teratogenic, and carcinogenic compounds. Aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) is a hydroxylated metabolite of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) formed in liver and excreted into breast milk. It is considered to impose certain hygienic risks to infant health. The aim of this study was to evaluate the presence of aflatoxin in breast milk using AFM<sub>1</sub> in milk as a biomarker for exposure to AFB<sub>1</sub>. We also tried to determine the level of AFM<sub>1</sub> in lactating mothers in Isfahan, Iran.

**Methods:** The study was carried out on 80 lactating women who were randomly selected from 2 urban health centers. Milk samples and information on food intake were collected from the participants using the structured food-frequency questionnaire. Breast milk samples were tested to determine AFM<sub>1</sub> levels by a competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique.

**Findings:** Our findings showed that the incidence of contamination with AFM<sub>1</sub> in our participants was 1.25%. AFM<sub>1</sub> was found only in one sample at a concentration of 6.8 ng/L. Chi-square analysis revealed the presence of AFM<sub>1</sub> to be significantly associated with consumption of sausages ( $P < 0.001$ ). AFM<sub>1</sub> level was found to be lower than the maximum tolerable limit (25 ng/l) accepted by the European Communities and Codex Alimentarius.

**Conclusion:** The benefits of breast milk have been well documented. Therefore, early childhood exposure to the environmental toxicants like aflatoxins may be a critical determinant of later health effects. The findings of this study pointed out that AFM<sub>1</sub> was present in only one milk sample. The findings confirmed the need for developing strategies to reduce exposure to aflatoxin in foods and also to routinely carry out biological monitoring of aflatoxins as a food quality control measure.

**Keywords:** Aflatoxin M<sub>1</sub>, Breast milk, Maternal nutrition, Enzyme-linked immunosorbent assay

<sup>1</sup> Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

<sup>2</sup> MSc Student, Student Research Committee, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Nasibeh Pourradi, Email:n.pourradi@gmail.com