

بررسی مقدماتی وجود باقیمانده هورمون‌های فنیل بوتازون، دگزامتازون و استرادیول در شیرهای پاستوریزه توزیع شده در شهر تهران به عنوان یک خطر بالقوه برای شهروندان

حمیدرضا فلاحت پیشه^۱، آراسب دباغ مقدم^۲، لادن طیبی^۳، مسعود محمودیان^۴، حسام‌الدین اکبرین^۵، شیرین راستگو^۶

تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۱۳۹۰/۵/۱۹

تاریخ اعلام وصول: ۱۳۹۰/۱/۲۳

چکیده

سابقه و هدف: هورمون‌ها در طب دامپزشکی با هدف درمان، پیشگیری، بهبود تولید فرآورده‌های دامی، کنترل چرخه تولید مثل، بهبود ویژگی‌های نژادی و افزایش مقبولیت خوراک دام به کار گرفته می‌شوند. بیشتر موارد خطرناک باقیمانده‌های دارویی که در حیوانات مولد غذا دیده شده است، به علت استفاده نادرست از داروهای دامپزشکی مانند عدم رعایت مدت زمان منع مصرف (Withdrawal Time)، استفاده از دارو به منظور پوشاندن نشانه‌های بالینی بیماری در زمان کشتار دام و استفاده از داروهای غیر مجاز و تأیید نشده بوده است. این هورمون‌ها در فرآورده‌های غذایی با منشا دامی باقی مانده و مصرف این گونه فرآورده‌ها عوارضی را برای انسان به همراه خواهد داشت. این پژوهش به منظور بررسی میزان احتمالی باقیمانده برخی از پر مصرف‌ترین و خطرناک‌ترین داروهای هورمونی در شیرهای پاستوریزه توزیع شده در شهر تهران انجام شد.

مواد و روش‌ها: ۵۰ نمونه شیر پاستوریزه به صورت تصادفی در مدت یک ماه با مراجعه به فروشگاه‌های سطح شهر تهران از انواع مختلف از نظر نام تجاری (Brand)، میزان چربی (کم چرب، استاندارد یا پر چرب) تهیه گردید. فنیل بوتازون و دگزامتازون در نمونه‌های شیر به روش HPLC-UV تعیین مقدار گردید. برای اندازه‌گیری ۱۷-بتا استرادیول در شیر از روش ELISA استفاده شد. **یافته‌ها:** حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری فنیل بوتازون ۲/۵ نانوگرم در میلی لیتر بود که از بین ۵۰ نمونه شیر بررسی شده، ۴۵ نمونه وجود باقیمانده فنیل بوتازون را بین ۱ تا ۵۸ نانوگرم در میلی لیتر نشان دادند (۹۰ درصد) [MRL (حداکثر سطح باقیمانده) فنیل بوتازون در شیر گاو صفر نانوگرم در میلی لیتر می‌باشد]. حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری دگزامتازون ۵ نانوگرم در میلی لیتر بود که از بین ۵۰ نمونه شیر بررسی شده، ۳۰ نمونه حاوی باقیمانده دگزامتازون بالاتر از ۵ نانوگرم در میلی لیتر بودند (۶۰ درصد) [MRL برای باقی مانده دگزامتازون در شیر ۰/۳ ppb می‌باشد]. از ۵۰ نمونه شیر مورد بررسی، در ۸ نمونه (۱۶ درصد) باقیمانده ۱۷-بتا استرادیول در حد بالاتر از میزان طبیعی شناسایی گردید. میزان طبیعی این هورمون در شیر ۳۰-۱۰ پیکوگرم در میلی لیتر می‌باشد. **بحث و نتیجه‌گیری:** اگر چه وجود هورمون‌ها برای فرآورده‌های مختلف فیزیولوژیک بدن ضروری است، اما مقادیر بیش از اندازه آنها عوارض اثبات شده‌ای دارد. وجود باقیمانده فنیل بوتازون در ۹۰ درصد نمونه‌های شیر مورد آزمایش، دگزامتازون در ۶۰ درصد نمونه‌ها و ۱۷-بتا استرادیول بالاتر از میزان طبیعی در ۱۶ درصد نمونه‌ها، نشان دهنده وضعیت بحرانی در نحوه و نوع مصرف داروها در طب دامپزشکی در شهر تهران و در نتیجه شیر حاصل از دام‌ها می‌باشد.

کلمات کلیدی: شیر، باقیمانده دارویی، فنیل بوتازون، دگزامتازون، ۱۷ بتا استرادیول

- ۱- پژوهشگر، ایران، تهران، کارشناس ارشد بیوشیمی، شرکت تحقیقاتی بیوفارماسی پارس
- ۲- مربی، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، گروه بهداشت دانشکده پزشکی (*نویسنده مسئول)
تلفن: ۰۲۱-۸۵۹۵۵۱۶۸ آدرس الکترونیک: dr_arasb@armyusms.ac.ir
- ۳- پژوهشگر، ایران، تهران، داروساز، شرکت تحقیقاتی بیوفارماسی پارس
- ۴- استاد، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه فارماکولوژی
- ۵- دستیار، ایران، تهران، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی
- ۶- پژوهشگر، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، کارشناس بهداشت محیط

مقدمه

طرح کشوری بررسی مصرف خانوار در سال‌های ۸۱ - ۱۳۷۸ که متوسط مصرف شیر و فرآورده‌های لبنی را در سطح کشور به ترتیب ۳۸ و ۱۳۹ گرم در روز اعلام نموده است (۷)، این مطالعه تلاش دارد که میزان احتمالی باقیمانده برخی از پرمصرف‌ترین و خطرناک‌ترین داروهای هورمونی در شیرهای پاستوریزه توزیع شده در شهر تهران بررسی گردد. بنا بر اطلاع نویسندگان، این پژوهش نخستین بررسی بر روی باقیمانده‌های هورمونی در شیرهای پاستوریزه در سطح کشور است.

مواد و روش‌ها

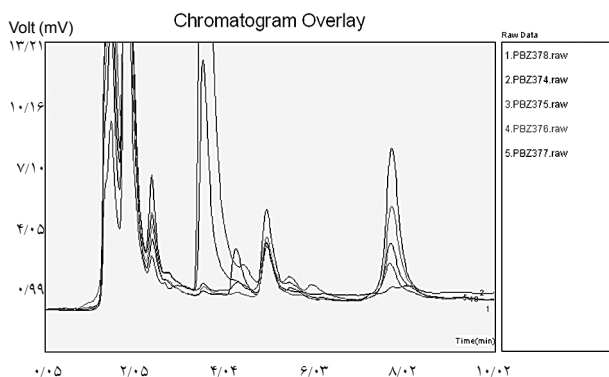
نمونه‌گیری: ۵۰ نمونه شیر پاستوریزه به صورت تصادفی در مدت یک ماه با مراجعه به فروشگاه‌های سطح شهر تهران از انواع مختلف از نظر نام تجاری (Brand)، میزان چربی (کم چرب، استاندارد یا پر چرب) تهیه گردید. هر یک از نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه شرکت تحقیقاتی بیوفارماسی پارس (همکار وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی) در لوله‌های درب‌دار ۱۰ میلی‌لیتری بسته‌بندی، کدگذاری و سپس به فریزر منفی ۱۵ درجه سانتی‌گراد منتقل و تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شد. نمونه‌های شیر بلانک، از گاوهای شیری که هیچ‌گونه هورمونی دریافت نمی‌کردند و روزانه دو بار از آن‌ها شیر دوشیده می‌شد، تهیه گردید. نمونه‌های بلانک پس از تهیه در منفی ۱۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و در زمان آزمایش از آن‌ها برای تهیه نمونه‌های کنترل (Spiked Sample) بهره‌گیری شد.

اندازه‌گیری فنیل بوتازون (PBZ): به یک میلی‌لیتر از نمونه شیر، یک میلی‌لیتر اتانول مطلق و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۲۵ درصد NH_4OH افزوده و خوب مخلوط شد. سپس ۲/۴ میلی‌لیتر ترشیوبوتیل متیل اتر به آن اضافه نموده، ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. پس از ۵ دقیقه به فاز آبی زیری، ۵ میلی‌لیتر از مخلوط تتراهیدروفوران-هگزان (۱ + ۴) و ۴۰۰ میکرولیتر از اسید کلریدریک ۳ مولار اضافه نموده و بعد از ۴ دقیقه ورتکس کردن، ۳۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. فاز آلی رویی، تحت گاز ازت تبخیر گردید. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از محلول DS [متانول - $0.2 \text{NaH}_2\text{PO}_4$ / مولار (۵۰ - ۵۰)] به لوله افزوده و ۱۰ ثانیه ورتکس گردید. در صورت نیاز، نمونه‌ها صاف می‌شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول به دستگاه HPLC (ستون: C_{18} به ابعاد ۳/۹*۱۵۰ میلی‌متر به همراه ستون محافظ از

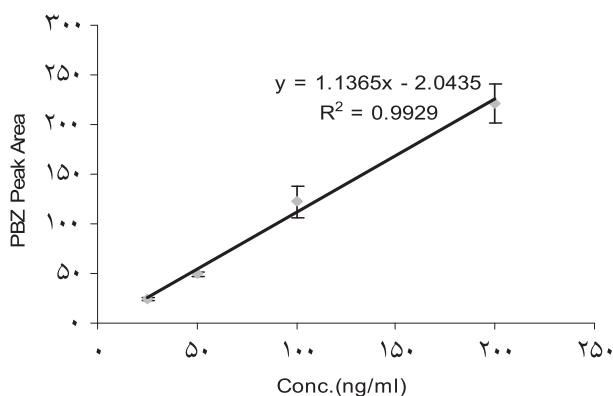
حدود ۸۰ درصد از حیوانات مولد غذا، برای دوره‌ای از زندگی خود تحت درمان با داروها قرار می‌گیرند که در این میان هورمون‌ها نقش ویژه‌ای دارند. به کارگیری هورمون‌ها با هدف درمان، پیشگیری، بهبود تولید فرآورده‌های دامی، کنترل چرخه تولید مثل، بهبود ویژگی‌های نژادی و افزایش مقبولیت خوراک دام می‌باشد (۱، ۲). حدود ۷۰-۶۰ درصد هورمون استرادیول با منشأ غذایی، ۸۰ درصد هورمون پروژسترون و ۴۰-۳۰ درصد تستوسترون رژیم غذایی از راه شیر و فرآورده‌های لبنی وارد بدن انسان می‌شوند (۳-۵). بیشتر موارد خطرناک باقیمانده‌های دارویی که در حیوانات مولد غذا دیده شده، به علت استفاده نادرست از داروهای دامپزشکی (مانند عدم رعایت مدت زمان منع مصرف (Withdrawal Time)، استفاده از دارو به منظور پوشاندن نشانه‌های بالینی بیماری در زمان کشتار دام و استفاده از داروهای غیر مجاز و تأیید نشده) بوده است (۵). بر اساس گزارش سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) در دهه ۷۰ میلادی مشکل یاد شده بیشتر مربوط به عدم رعایت مدت زمان منع مصرف بوده و به مقدار اندکی نیز استفاده از داروهای غیر مجاز گزارش شده است. در حال حاضر تقریباً برای ۹۰ درصد گاوهای گواشتی در آمریکا هورمون تجویز می‌شود. وضعیت ایران از این نظر چندان روشن نیست، اما بر اساس آخرین گزارش دریافتی از سازمان دامپزشکی کشور در سال ۱۳۸۴، بالاترین میزان فروش داروهای هورمونی دامپزشکی مربوط به استرادیول بنزوات (تزریقی)، فنیل بوتازون (پماد و تزریقی) و بتامتازون (تزریقی) بوده است. البته هورمون‌های تهیه شده از مبادی قاچاق یا از طریق داروخانه‌های انسانی را نیز باید به آن افزود (۶). شیر گاو به شکل طبیعی علاوه بر هورمون‌های پپتیدی حاوی برخی از هورمون‌های استروئیدی (مانند گلوکوکورتیکوستروئیدها، کورتیزول، کورتیکواسترون، پروژسترون، استرون و استرادیول) در مقادیر بسیار کم می‌باشد. باید توجه داشت که غلظت طبیعی هورمون‌ها در شیر، در مقایسه با تولید طبیعی آن‌ها در بدن بسیار ناچیز است و به همین دلیل اثرات فیزیولوژیک آن‌ها بسیار اندک خواهد بود. در واقع، مشکل زمانی روی خواهد داد که بخشی از هورمون به دنبال مصرف آن در دام شیری، وارد شیر گردد. با توجه به آثار بهداشتی، اقتصادی و اجتماعی مصرف بیش از حد و غیرمجاز هورمون‌ها و نیز با توجه به نتایج

که با افزودن مقادیر استاندارد فنیل بوتازون در نمونه شیر بلانک به دست آمده است، در شکل ۱ و منحنی استاندارد آن در شکل ۲ نشان داده شده است. میزان درصد بازیافت فنیل بوتازون در محدوده غلظتی (۲۰۰ - ۲۵ نانوگرم در میلی لیتر) ۸۸/۲ - ۷۲/۶ درصد بوده و میانگین درصد بازیافت ۷۸/۳ درصد می باشد. این نتایج با اندکی اختلاف با نتایج به دست آمده در روش مرجع (DE VEAU: Journal of AOAC International Vol ۷۹, No ۵, ۱۹۹۶) همخوانی دارد.

دقت یا تکرار پذیری روش Between-day Precision: میانگین RSD درصد یا CV درصد برای ۴ بار تکرار اندازه گیری در همه غلظت‌ها ۷/۶ درصد تعیین گردید که با میانگین به دست آمده در روش مرجع کاملاً مطابقت دارد. بررسی درصد صحت پاسخ‌های به دست آمده نیز نشان داد که کمتر از ۳۰ درصد انحراف از پاسخ‌های واقعی دیده می شود. در این روش حداقل مقدار قابل اندازه گیری فنیل بوتازون ۲/۵ نانوگرم در میلی لیتر و حداقل مقدار قابل شناسایی ۱/۴۵ نانوگرم در میلی لیتر بود.



شکل ۱- کروماتوگرام‌های نمونه‌های شیر حاوی مقادیر استاندارد فنیل بوتازون



شکل ۲- منحنی استاندارد فنیل بوتازون افزوده شده به شیر بلانک

همان نوع، دمای ستون: ۴۰ درجه سانتی گراد، طول موج دکتور UV: ۲۶۴ نانومتر، فاز متحرک: متانول- بافر فسفات ۰/۰۲ مولار (۵۰-۵۰)، سرعت جریان فاز متحرک: ۱ میلی لیتر در دقیقه و زمان آنالیز ۱۵ دقیقه) تزریق گردید.

در هر روز کاری، یک سری کامل نمونه‌های کنترل (شیر بلانک و شیر حاوی PBZ ۲۰۰-۲۵ نانوگرم بر میلی لیتر) دقیقاً مانند نمونه مجهول مورد استخراج قرار گرفت. کنترل‌های تهیه شده پس از غنی سازی به طور کامل ورتکس می شدند تا ماده اضافه شده به شکل کاملاً یکنواخت در نمونه شیر پراکنده گردد.

اندازه گیری دگزامتازون: ابتدا شیرهای داخل لوله‌های نمونه در دمای آزمایشگاه کاملاً ذوب و همگن شدند. به ۱ میلی لیتر از نمونه همگن شده، ۱ میلی لیتر اتانول مطلق و ۰/۵ میلی لیتر محلول ۳ نرمال اسید کلریدریک افزوده شد. پس از ۱۰ ثانیه ورتکس نمودن، ۵ میلی لیتر ترشیو بوتیل متیل اتر به آن افزوده شده و دوباره ۲ دقیقه ورتکس گردید. سپس ۱۵ دقیقه در سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و فاز روئی جدا و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و تحت گاز ازت خشک گردید و در نهایت باقیمانده در ۲۵۰ میکرو لیتر فاز متحرک حل گردید. ۱۰۰ میکرو لیتر از این محلول پس از صاف نمودن به دستگاه HPLC تزریق شد.

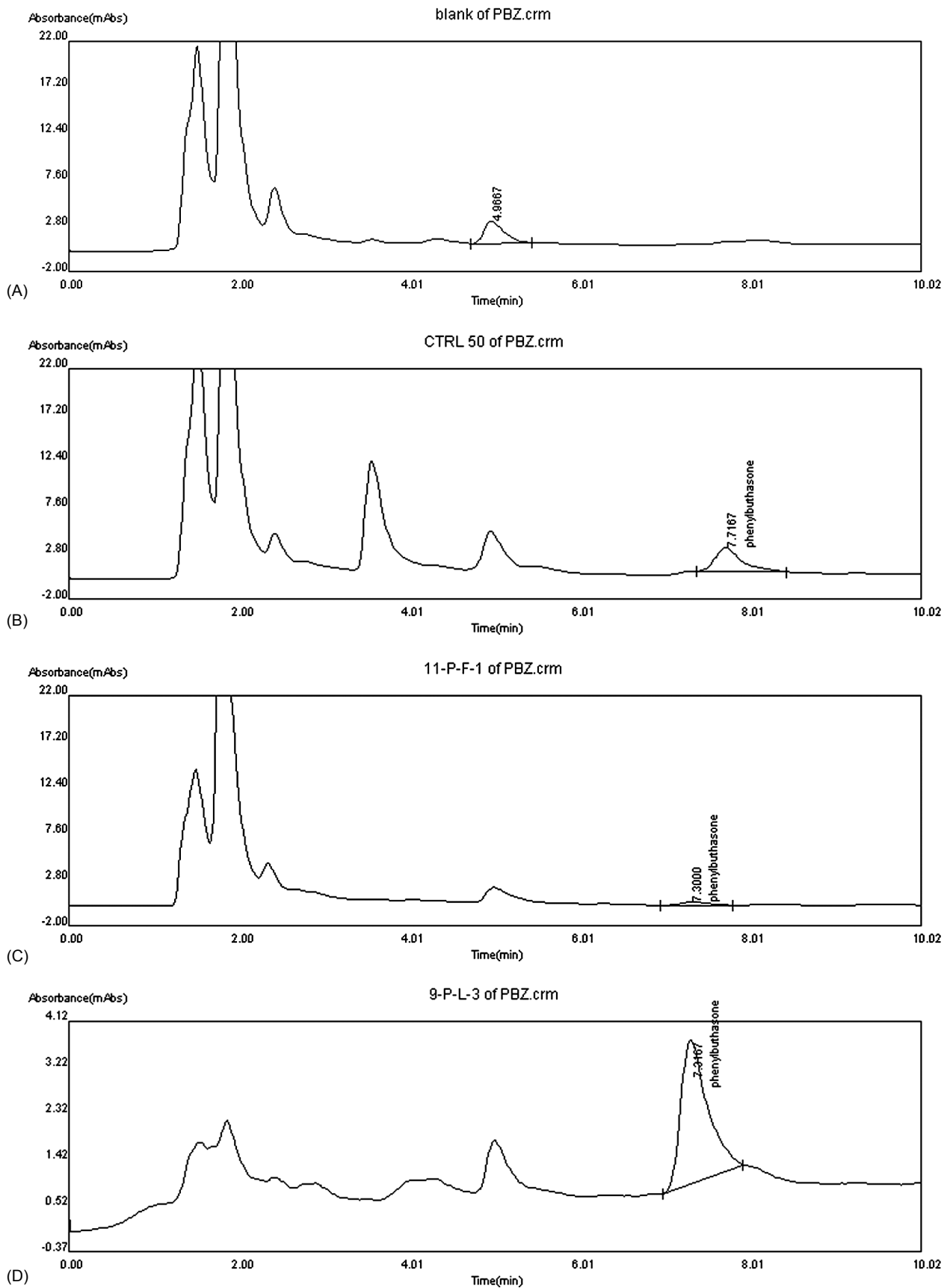
اندازه گیری ۱۷-بتا استرادیول: میزان استرادیول در نمونه‌های شیر به کمک کیت الیزا استرادیول تعیین مقدار گردید. اساس روش این کیت بر پایه رقابت بر سر اتصال به پوشش آنتی بادی درون چاهک‌ها بین استرادیول با منشأ خارجی و استرادیول کنژوگه با آنزیم پراکسیداز می باشد. جذب در 450 ± 10 نانومتر توسط دستگاه ELISA Reader خوانده شد.

محاسبات: میانگین جذب برای هر یک از نمونه‌های استاندارد، کنترل و نمونه مورد آزمایش اندازه گیری شد. میانگین جذب استانداردها در برابر غلظت، رسم و از معادله خط رسم شده (منحنی استاندارد) برای تعیین غلظت نمونه‌های مورد آزمایش استفاده گردید.

یافته‌ها

نتایج مربوط به اندازه گیری فنیل بوتازون (PBZ):

کروماتوگرام‌ها و نتایج مربوط به نمونه‌های کنترل فنیل بوتازون



شکل ۳- کروماتوگرام به دست آمده از: - نمونه بلانک (A) - نمونه شیر حاوی ۵۰ نانوگرم در میلی لیتر فنیل بوتازون (B) - دو نمونه شیر جمع آوری شده از سطح شهر تهران (C, D)

نشان می‌دهد که روش استخراج به کار برده شده برای اندازه‌گیری دگزامتازون در شیر از قابلیت خوبی برخوردار است. میانگین RSD درصد یا CV درصد برای ۸ بار تکرار اندازه‌گیری در همه غلظت‌ها ۱۵/۸ درصد تعیین گردید. بررسی درصد صحت پاسخ‌های به دست آمده نشان داد که کمتر از ۱۰ درصد، انحراف از پاسخ‌های واقعی دیده می‌شود. در این روش حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری دگزامتازون، ۵ نانوگرم در میلی‌لیتر و مقدار قابل شناسایی ۳/۹ نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. بر اساس نتایج فوق با این روش دگزامتازون در محدوده غلظتی بالاتر از ۵ نانوگرم در میلی‌لیتر قابل اندازه‌گیری می‌باشد و مقادیر کمتر از آن تحت عنوان غیر قابل اندازه‌گیری (ND) اعلام گردید. نمونه کروماتوگرام‌های یک نمونه شیر فاقد دارو (بلانک)، استاندارد حاوی ۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر از دگزامتازون و ۲ نمونه شیر مورد بررسی در شکل ۶ آورده شده است. از بین ۵۰ نمونه شیر ۳۰ مورد بررسی شده، ۳۰ نمونه حاوی باقیمانده دگزامتازون بالاتر از ۵ نانوگرم در میلی‌لیتر بودند (۶۰ درصد). [MRL برای باقیمانده دگزامتازون در شیر ۰/۳ نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد].

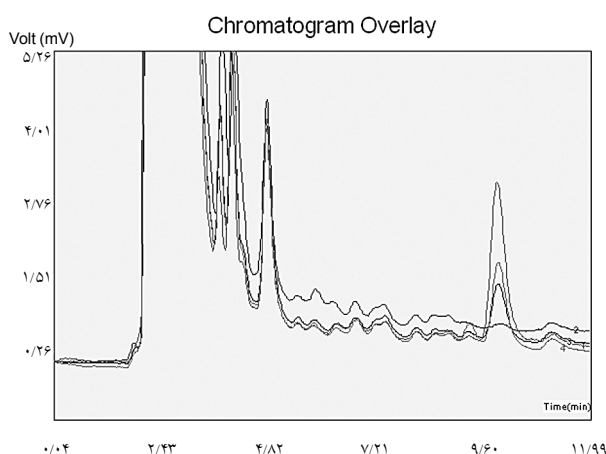
نتایج مربوط به اندازه‌گیری ۱۷- بتا استرادیول: در بررسی وجود باقیمانده ۱۷-بتا استرادیول در شیرهای پاستوریزه، از ۵۰ نمونه شیر مورد بررسی، در ۸ نمونه (۱۶ درصد) باقیمانده این ماده در حد بالاتر از میزان طبیعی شناسایی گردید. غلظت طبیعی ۱۷- بتا استرادیول در شیر ۳۰ - ۱۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد (۶).

بحث

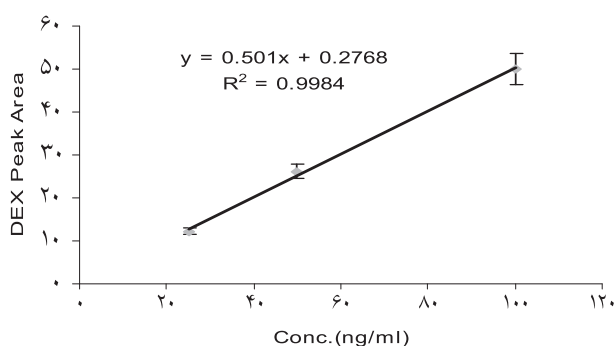
فنیل بوتازون: با توجه به نتایج به دست آمده، می‌توان اذعان کرد که راه اندازی این روش مطابق با تنها روش مرجع و با موفقیت کامل در این خصوص صورت گرفته است. در بررسی وجود باقیمانده فنیل بوتازون در شیرهای پاستوریزه، از ۵۰ نمونه شیر مورد بررسی، در ۴۵ نمونه (۹۰ درصد) باقیمانده این دارو شناسایی گردید. کاربرد فنیل بوتازون در حیوانات تولید کننده غذا توسط FDA تأیید نشده است و شیر حاصل از دام تا ۷ روز پس از آخرین تجویز دارو به دام، برای انسان منع مصرف دارد. فنیل بوتازون یک ضد التهاب غیر استروئیدی است که در ایران به میزان زیادی در حیوانات مولد غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶، ۸، ۹، ۱۰). این دارو در انسان دارای عوارض جدی و خطرناکی مانند لنفادنوپاتی، دپرسیون

بر اساس نتایج فوق با این روش فنیل بوتازون در محدوده غلظتی بالاتر از ۲/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر قابل اندازه‌گیری می‌باشد و مقادیر کمتر از ۲/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر تحت عنوان غیر قابل اندازه‌گیری (ND) اعلام گردید. نمونه کروماتوگرام‌های یک نمونه شیر فاقد دارو (بلانک)، استاندارد حاوی ۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر از فنیل بوتازون و ۲ نمونه شیر مورد بررسی در شکل ۳ آورده شده است. از بین ۵۰ نمونه شیر بررسی شده، ۴۵ نمونه وجود باقیمانده فنیل بوتازون را بین ۱ تا ۵۸ نانوگرم در میلی‌لیتر نشان دادند (۹۰ درصد). [MRL فنیل بوتازون در شیر گاو صفر نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد].

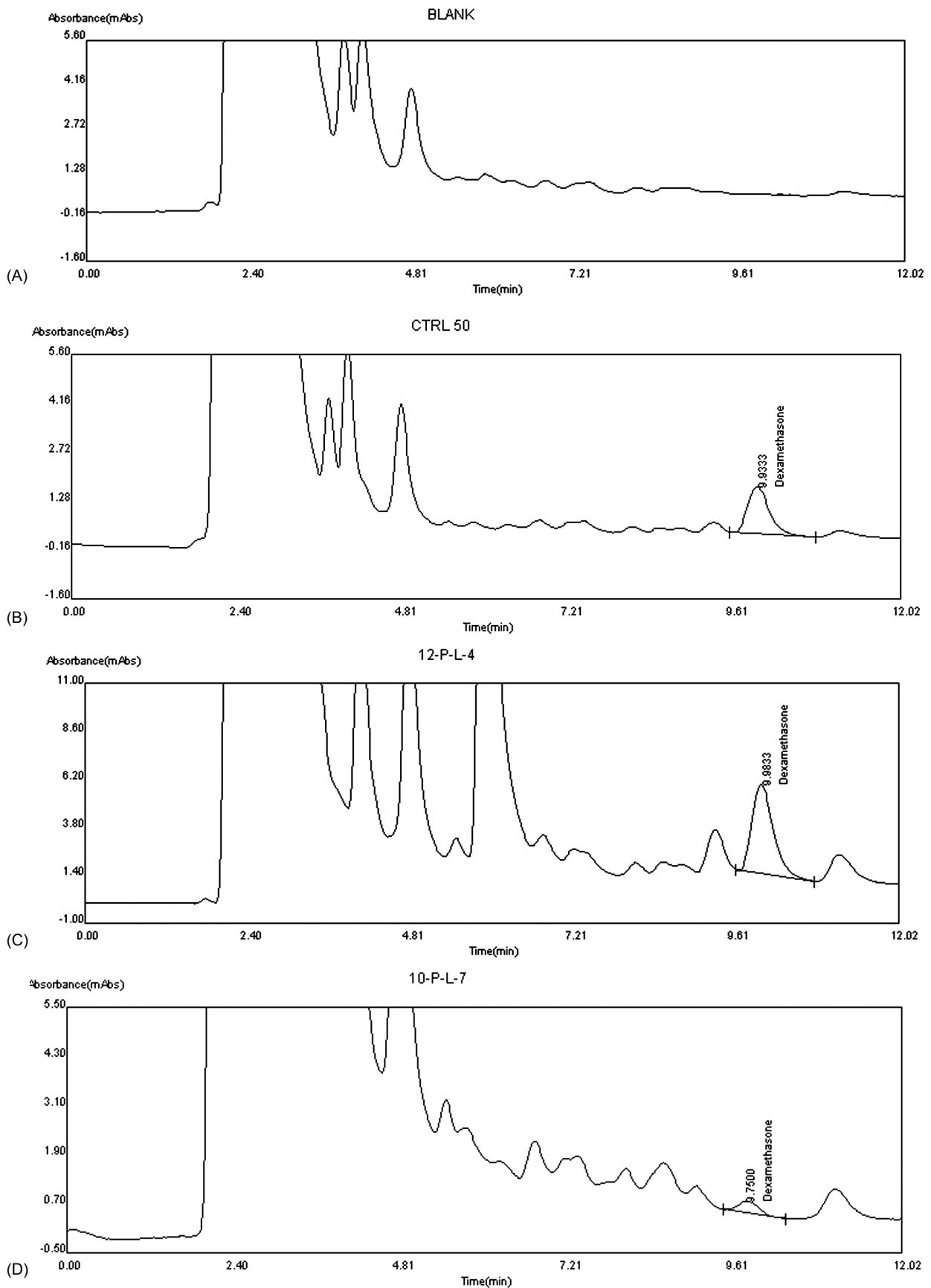
نتایج مربوط به اندازه‌گیری دگزامتازون: کروماتوگرام‌ها و نتایج مربوط به نمونه‌های کنترل دگزامتازون که با افزودن مقادیر استاندارد دگزامتازون در نمونه شیر بلانک به دست آمده است، در شکل ۴ و منحنی استاندارد آن در شکل ۵ نشان داده شده است. میزان درصد بازیافت دگزامتازون در محدوده غلظتی ۱۰۰ - ۲۵ نانوگرم در میلی‌لیتر دگزامتازون در شیر در محدوده ۱۰۰/۳ - ۹۱/۴ درصد و میانگین درصد بازیافت، ۹۶/۱ درصد می‌باشد. نتیجه به دست آمده



شکل ۴- کروماتوگرام‌های نمونه‌های شیر حاوی مقادیر استاندارد دگزامتازون



شکل ۵- منحنی استاندارد دگزامتازون افزوده شده به شیر بلانک



شکل ۶- کروماتوگرام به دست آمده از: - نمونه بلانک (A) - نمونه شیر حاوی ۵۰ نانوگرم در میلی لیتر دکزامتازون (B) - دو نمونه شیر جمع آوری شده از سطح شهر تهران (C, D)

شیر و فراورده‌های آن و تنها ۲۰-۱۵ درصد توسط گوشت و ماهی وارد بدن می‌شوند (۳). اگر چه وجود هورمون‌ها برای فرایندهای مختلف فیزیولوژیک بدن ضروری است، اما مقادیر بیش از اندازه آن‌ها عوارض اثبات شده‌ای برای سلامت انسان دارد که استرادیول بحث‌انگیزترین این هورمون‌هاست (۶، ۱۶). این هورمون در افزایش وقوع برخی از سرطان‌ها مانند سرطان پستان و رحم نقش اساسی دارد. همچنین احتمال بروز تومورهای استخوانی، هیپوفیزی و لنفونید، با مقادیر بالای استرادیول وجود دارد (۱۵). کودکان و نیز جنین موجود در رحم از نظر عوارض هورمونی در خطر بیشتری هستند زیرا سطح هورمونی فیزیولوژیک آن‌ها در مقایسه با بالغان پائین‌تر است. یکی از عوارض استرادیول در سنین قبل از بلوغ، ایجاد کیست‌های تخمدانی در کودکان دختر می‌باشد (۶، ۱۸-۱۷). از مجموع ۵۰ نمونه بررسی شده، در ۲۸ نمونه (۵۶ درصد) هم فنیل بوتازون و هم دگزامتازون بالاتر از میزان قابل قبول شناسایی شد. در ۵ نمونه (۱۰ درصد) هر ۳ دارو بالاتر از مقادیر قابل قبول بودند. نکته قابل توجه دیگر در این پژوهش، نحوه نمونه‌گیری به منظور بررسی رابطه بین درصد چربی - نام تجاری بود که در مورد فنیل بوتازون نمونه‌هایی که میزان دارو در آن‌ها کمتر از حد شناسایی روش بود و با ND مشخص گردید، تماماً کم چرب بودند و در مورد دگزامتازون نیز حدود ۸۶ درصد نمونه‌های حاوی مقدار کمتر دارو از حد شناسایی روش (۵ نانوگرم در میلی‌لیتر) کم چرب یا با چربی استاندارد بودند. در مورد ۱۷-بتا استرادیول، نیمی از نمونه‌های حاوی استرادیول بالاتر از حد طبیعی، پرچرب بودند.

وجود باقیمانده فنیل بوتازون در ۹۰ درصد از نمونه‌های شیر مورد آزمایش، دگزامتازون بالاتر از ۵ نانوگرم در میلی‌لیتر در ۶۰ درصد از نمونه‌ها و ۱۷-بتا استرادیول بالاتر از میزان طبیعی در ۱۶ درصد از نمونه‌ها، نشان دهنده یک وضعیت بحرانی در نحوه و نوع مصرف داروها در طب دامپزشکی در شهر تهران و در نتیجه شیر حاصل از دام‌ها می‌باشد.

نکته حائز اهمیت این است که این پژوهش بر روی شیرهای پاستوریزه که فرایند حرارتی را طی نموده و به‌طور معمول مخلوطی از شیر چند دامداری می‌باشند، انجام شده است، لذا در صورتی که آزمون بر روی شیر خام صورت می‌گرفت، به احتمال زیاد مقادیر بالاتری از این هورمون‌ها در شیر شناسایی می‌شد. وجود باقیمانده

مغز استخوان، آگرانولوسیتوز، آنمی آپلاستیک، آنمی همولیتیک، لوکوپنی، واکنش‌های حساسیتی مانند آسم و غیره می‌باشد (۱۱).
دگزامتازون: اندازه‌گیری دگزامتازون در روش HPLC صورت گرفت. با توجه به این که حداقل میزان قابل اندازه‌گیری (LOD) دگزامتازون در روش به‌کار رفته در این تحقیق ۵ نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد، در بررسی وجود باقیمانده دگزامتازون در شیرهای پاستوریزه، از ۵۰ نمونه شیر مورد بررسی، در ۳۰ نمونه (۶۰ درصد) باقیمانده این دارو بالاتر از ۵ نانوگرم در میلی‌لیتر تعیین مقدار گردید. MRL برای باقیمانده دگزامتازون در شیر ۰/۳ نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد (۱۲). با توجه به این که MRL دگزامتازون پایین‌تر از حساسیت روش به‌کار رفته می‌باشد، احتمال وجود نمونه‌هایی حاوی باقیمانده بالاتر از MRL ولی کمتر از حد قابل شناسایی روش، وجود دارد.

دگزامتازون یک گلوکوکورتیکوئید صناعی است که در طب دامپزشکی به میزان وسیعی در درمان بیماری‌های متابولیک، اختلالات التهابی، بیماری‌های پوستی با علت نامشخص، شوک، تنش و غیره استفاده می‌شود. مصرف درازمدت و طولانی این دارو در انسان، اثرات منفی بر روی اندام‌های متعددی دارد که مهم‌ترین آن‌ها غدد فوق کلیوی و تیموس می‌باشد. ضمن اینکه این دارو در متابولیسم پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها اختلال ایجاد کرده و سبب کاهش گلیکوژن کبدی و افزایش سطح چربی سرم خون نیز می‌شود. همچنین دگزامتازون، متابولیسم کلسیم و فسفر را تحت تأثیر قرار داده و ایجاد استئوپروز می‌نماید. این دارو باعث تضعیف فعالیت دستگاه ایمنی شده و اختلالاتی را در هورمون‌های جنسی، اعصاب و غیره ایجاد می‌کند (۱۱، ۱۴-۱۳).

۱۷-بتا استرادیول: برای اندازه‌گیری باقیمانده ۱۷-بتا استرادیول در شیر از روش ELISA استفاده شد. در بررسی وجود باقیمانده ۱۷-بتا استرادیول در شیرهای پاستوریزه، از ۵۰ نمونه شیر مورد بررسی، در ۸ نمونه (۱۶ درصد) باقیمانده این ماده بالاتر از میزان طبیعی شناسایی گردید. غلظت طبیعی ۱۷-بتا استرادیول در شیر ۳۰-۱۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد (۶).

درصد بالایی از هورمون‌هایی که روزانه توسط مواد غذایی وارد بدن انسان می‌شوند، از طریق شیر و فراورده‌های شیری می‌باشند. به طوری که ۷۰-۶۰ درصد استروژن‌های جیره غذایی روزانه، توسط

انجام مطالعات گسترده‌تر به منظور تشخیص و شناسایی سایر هورمون‌ها در سطحی وسیع‌تر هم در فراورده‌های لبنی و سایر فرآورده‌های خوراکی با منشأ دامی (گوشت، تخم مرغ و غیره) با هدف کمک به برنامه‌ریزی در جهت ایجاد کنترل‌های لازم، بهینه‌سازی زنجیره تولید مواد غذایی و ایجاد زمینه‌ها و انگیزه‌های لازم به منظور فعال شدن، تکمیل و تجهیز آزمایشگاه‌هایی که از توان علمی کافی در زمینه آزمایش هورمون‌ها برخوردارند، در کاهش باقیمانده هورمون‌ها در شیر مؤثر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب سپاس و امتنان خود را از سازمان غذا و داروی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به دلیل تأمین اعتبار انجام این پژوهش اعلام می‌دارند.

هورمون‌ها در مواد غذایی با منشأ دامی، نه تنها در دراز مدت هزینه‌های گزافی را به سامانه تأمین سلامت کشور تحمیل می‌کند، بلکه در کوتاه مدت نیز مانع صادرات مواد غذایی شده و به اقتصاد کشور هم زیان وارد می‌کند. همه موارد فوق حاکی از اهمیت و ضرورت کنترل و نظارت دقیق بر میزان باقیمانده‌های هورمونی در شیر می‌باشد. تنظیم و تدوین استانداردهای مربوط باید در دستور کار فوری سازمان‌های مسؤول مانند سازمان دامپزشکی کشور، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی قرار گیرد. تدوین قوانین به روز و تخصصی در این زمینه لازم است تا در صورت تخلف، موارد از طریق سامانه قضایی کشور قابل پیگیری باشند. آموزش افراد دست اندرکار (دامداران و غیره) و آگاهی دادن نسبت به عواقب استفاده کنترل نشده از هورمون‌ها، نظارت مستمر و جدی سازمان‌های مسؤول،

References

- 1- Van Peteghem C and Daeseleire E. Drug residue analysis in food and feed, state of art for growth promoters. Handbook of food analysis. New York Basel, Hong Kong: Marcel Dekker Inc ;2003.
- 2- Doyle, E. Human safety of hormone implants used for promote growth in cattle, A review of the scientific literature. Food Research Institute. Madison University of Wisconsin ; July 2000, 1-15
- 3- Hartmann S, Lacorn M, Steinhart H. Natural occurrence of steroid hormones in food. Food Chemistry 1998 ; 62 (1): 7-20.
- 4- World Health Organization. Evaluation of certain veterinary drug residues in food, Seventieth report of Joint FAO/WHO expert committee on food additives, WHO technical report series; no. 954, WHO Library Cataloguing-in-Publication Data;2009: 27-30, 46-56.
- 5- World Health Organization: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, Seventieth report of Joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA) , WHO technical report series; no. 61, WHO Library Cataloguing-in-Publication Data;2009: 69-92.
- 6- Dabbagh Moghaddam A, Ehsani M. Veterinary hormone residues in milk and their hazards for human, 15th Iranian Veterinary Congress. Iran ; 2009; p: 116-131.
- 7- Report of food consumption in Iran families, Iranian Nutrition and food technology Institute, 1999-2002.
- 8- FDA: order prohibits extra – label use of phenylbutazone". FDA veterinarian, March/April 2003.
- 9- Marunaka T, Shibata T, Minami Y, Umeno Y. Simultaneous determination of phenylbutazone and its metabolites in plasma and urine by high performance liquid chromatography. J chromat 1980; 183 (3): 331-338.
- 10- Veau ID. Determination of phenylbutazone residues in bovine milk by liquid chromatography with UV detection. J AOAC intern 1996 ; 79 (5): 1050-1053.
- 11- Sweetman, S.C., Martindal's the complete drug reference, 34th edition. 2005, pharmaceutical press.
- 12- Caloni F, Belloli C, Archimbault P. Determination of dexamethasone in milk of dairy cows by Immuno-Enzymatic assay. Vet Hum Tox 2000; 42 (6): 345-348.
- 13- Depapolis AM, Schnabel G, Katz SE, Rosen JD. Determination of dexamethasone in milk by high pressure liquid chromatography. J AOAC 1977; 60 (1): 210-212.
- 14- Reding J, Sahin A, Schlatter J, Naegeli H. Dexamethasone and flumethasone in milk of intramuscularly dosed cows, J Vet Pharmacol Ther 1997 ; 20 (3): 198-203.
- 15- Daxenberger A, Ibarreta D, Meyer HH. Possible health impact of animal oestrogens in food, Hum Reprod Update 2001; 7 (3): 340-355.
- 16- Codex alimentarius commission: Codex committee on residues of veterinary drugs in food, 14th session, Arlington, Virginia, USA, 4-7 March 2003, Proposed draft appendix on

- the prevention and control of veterinary drugs residues in milk and milk products, CX/RVDF 03/5-Add.1
- 17- Lopez H, Bunch TD, Shipka MP. Estrogen concentrations in milk at estrus and ovulation in dairy cows. Anim rep sci 2002; 72: 37-46.
- 18- Aksglaede L, Juul A, Leffers H, Skakkebaek NE, Andersson AM: The sensitivity of the child to sex steroids: possible impact of exogenous estrogens. Hum rep updat 2006; 12 (4): 341-349.

A Primordial Survey of Phenylbutazone, Dexamethasone and Estradiol Residues in Pasteurized Milks of Tehran, Iran as a Potential Risk for Citizens

Falahatpisheh. HR¹, *Dabbagh Moghadam. A², Tayebi. L³, Mahmoudian. M⁴, Akbarein. H⁵, Rastgoo. Sh⁶

Received: 12 Apr 2011

Accepted: 10 Aug 2011

Abstract

Background: Hormones are used in veterinary medicine for different purposes such as treatment, improving animal products, obstetrical cycles, breed performances and enhancing acceptability of feed. The most dangerous drug residues presented in food of animal origin are because of neglecting withdrawal time, masking the sign of diseases in slaughterhouse and using unapproved drugs. Hormone residues in food of animal origin have health impacts on consumers. This survey have been done for determining the probable presence of the most used and dangerous hormones in pasteurized milk distributed in Tehran, capital of Iran.

Materials and Methods: 50 samples of pasteurized milk were randomly collected from Tehran market from different brands and fats (low, standard and full). Residues of phenylbutazone (PBZ) and Dexamethasone (DXM) were detected by HPLC-UV method according to AOAC instructions. ELISA was applied for measuring of 17- β Estradiol residues.

Results: Minimum detectable residue of PBZ in milks was 2.5 ng/ml. 45 samples (90%) had PBZ from 1 to 58 ng/ml (Minimum Residues Level (MRL) for PBZ in cow milk must be zero per milliliter). Minimum detectable residue of DXM in milks was 5 ng/ml, which in 30 (60%) samples was more than 5 ng/ml (MRL for DXM in cow milk must be 0.3 ppb). In 8 samples out of 50 (16%) residues of 17- β Estradiol was more than natural hormone residue (natural residues of 17- β Estradiol in milk is 10-30 pb/ml).

Conclusion: Although hormones are vital for many physiological functions of humand beings, but exceeding of them in the body make many health problems. PBZ residue in 90%, DXM in 60% and 17- β Estradiol in 16% of milk samples pointing a dangerous situation of using veterinary drugs in food animals and their milks.

Keywords: milk, drug residue, Phenylbutazone, Dexamethasone, 17- β Estradiol

1- Researcher, MSc. Of Biochemistry, Pars Biopharmacy Research co., Tehran, Iran

2- (*Corresponding Authors) Lecturer, Faculty of Medicine, AJA University of Medical Science, Tehran, Iran

Tel: +98 21 85955168 Email: Dr_arasb@armyums.ac.ir

3- Researcher, Pharmacists, Pars Biopharmacy Research Co., Tehran, Iran

4- Professor of pharmacology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

5- Researcher, Senior of Veterinary Epidemiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

6- Researcher, BSc. in Enviromental Health, Deputy of Health, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran.