doi: 10.22034/8.1.1.72

مجله بهداشت و توسعه **مقاله پژوهشی**

سال هشتم/شماره ۱/ بهار ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲۸ **تاریخ پذیرش:** ۹۷/۵/۱۷

اندازه گیری سم آفلاتوکسین M_1 و بقایای آنتی‌بیوتیک در شیر خام عرضه شده در شهر بجنورد در سال ۱۳۹۵

مجید کرمانی[۱]، احمد یزدانی[۲]، سیده نسترن اسدزاده[۳،۴]، احمد رجبی‌زاده[۵]، حمیده نیکوزاده[۶]، نیما فیروزه[۷]، میترا هاشمی[۸]

چکیده

مقدمه: شیر در زمره کامل‌ترین موادغذایی محسوب شده و مصرف شیرخام حاوی آنتی‌بیوتیک و آفلاتوکسین M_1 نگرانی زیادی را در بین مصرف‌کنندگان ایجاد کرده است. هدف از این مطالعه تعیین میزان آلودگی شیرخام به آفلاتوکسین و بقایای آنتی‌بیوتیک شهر بجنورد بود.

روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، ۴۰ نمونه شیرخام از مراکز توزیع شیرخام سطح شهرستان بجنورد در تابستان و پاییز سال ۱۳۹۵ به طور تصادفی اخذ گردید. نمونه‌ها از نظر میزان آفلاتوکسین و بقایای آنتی‌بیوتیک به ترتیب به روش الایزا و کیت کوپن مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت توصیف داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی میانگین و انحراف‌معیار استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج: بر اساس نتایج مطالعه، هیچ باقی‌مانده آنتی‌بیوتیکی در شیرخام مشاهده نگردید و میزان آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های جمع‌آوری شده غلظتی بین ۵/۱ تا ۶۵ نانوگرم بر لیتر داشتند و غلظت آفلاتوکسین M_1 در تمامی نمونه‌ها کمتر از حد مجاز استاندارد ایران بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این تحقیق میزان آنتی‌بیوتیک و آفلاتوکسین M_1 در شیرهای خام سطح بجنورد در حد قابل قبول بود؛ لذا به لزوم بررسی مستمر باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک و سم آفلاتوکسین در شیرخام در تمام فصول توصیه می‌گردد.

واژگان کلیدی: آفلاتوکسین M_1، آنتی بیوتیک، الایزا، شیرخام

مقدمه

شیر در زمره کامل‌ترین موادغذایی محسوب شده که در کاهش فشارخون، پیشگیری از سرطان کولون و پوکی استخوان، تأمین بسیاری از موادمغذی مانند پروتئین و کلسیم مؤثر می‌باشد (۱)؛ لذا آلودگی این ماده غذایی ارزشمند و فرآورده‌های آن به‌عنوان یک خطر جدی برای سلامت عمومی جامعه قلمداد می‌شود. از جمله این آلودگی‌ها، آلودگی با آفلاتوکسین و بقایای آنتی‌بیوتیکی می‌باشد (۲).

مایکوتوکسین‌ها مولکول‌های کوچکی هستند که

۱- دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۲- مسئول آزمایشگاه، معاونت غذاو دارو، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

۳- کارشناس، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بجنورد، بجنورد، ایران

۴- دانشجوی دکترا، کمیته تحقیقات دانشجویی، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۵- مربی، مرکز تحقیقات مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۶- کارشناس، معاونت غذاو دارو، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

۷- دانشجوی دکترا، گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۸- کارشناس ارشد، گروه آمار، معاونت پژوهشی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

نویسنده‌ی مسئول: سیده نسترن اسدزاده **Email:** snasadzade3@gmail.com

آدرس: خراسان شمالی، بجنورد، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی **تلفن:** ۰۹۱۵۰۸۹۶۵۸۸ **فاکس:** ۰۵۸۳۲۲۲۳۱۵۱

توسط قارچ‌های رشته‌ای تولید می‌گردند. آن‌ها متابولیت ثانویه قارچ‌ها بوده و از طریق آلوده ساختن خوراک دام و غذای انسان می‌توانند باعث بیماری و حتی مرگ انسان شوند؛ اگرچه بیش از ۲۰۰۰ نوع متابولیت ثانویه برای قارچ‌ها شناسایی شده؛ اما آفلاتوکسین‌ها یکی از شناخته شده‌ترین و مهم‌ترین مایکوتوکسین‌ها بوده که بیش از بقیه مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۳). آفلاتوکسین‌ها ترکیبات بسیار سمّی، جهش‌زا و سرطان‌زا هستند و به عنوان عوامل بالقوه سرطان کبد مطرح بوده و سیستم ایمنی بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۴). آن‌ها توسط قارچ آسپرژیلوس فلاووس، پارازیتیکوس، بمبسیس، اکراسئوروسوس، نومیوس و سودوتاماری تولید می‌شوند. انواع اصلی آفلاتوکسین به ترتیب عبارت‌اند از $B1, B_2, G_1, G_2, M_1, M_2$ که M_1, M_2 متابولیت B_1, B_2 می‌باشند (۵). آفلاتوکسین B_1، متابولیت اصلی آسپرژیلوس‌ها به خصوص اسپرژیلوس فلاووس و پارازیتیکویس می‌باشد و آفلاتوکسین M_1 در شیر حیواناتی یافت می‌شود که خوراک آن‌ها به آفلاتوکسین B_1 آلوده باشند (۶). سمّیت حاد آفلاتوکسین M_1 مشابه و یا کمی خفیف‌تر از آفلاتوکسین B_1 و پتانسیل سرطان‌زایی آن تقریباً یک دهم آفلاتوکسین B_1 است (۷). آفلاتوکسین B_1 و M_1 توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان به ترتیب در کلاس I (سرطان‌زا) و کلاس B_2 (احتمالاً سرطان‌زا) قرار داده شده‌اند (۸). هنگامی که خوراک دام توسط آفلاتوکسین B_1 آلوده می‌شود، این سم ۱۲ تا ۲۴ ساعت بعد در اثر متابولیسم به آفلاتوکسین M_1 تبدیل شده و پس از چند روز آفلاتوکسین M_1 به حداکثر میزان خود می‌رسد (۹). نسبت آفلاتوکسین B_1 خورده شده به آفلاتوکسین M_1 دفع شده بین ۳-۱ درصد (۱۰)، ۴-۱ درصد (۱۱) و برخی منابع ۵-۰/۵ درصد ذکر شده است (۱۲). در صورتی که میزان آفلاتوکسین B_1 در خوراک دام حدود ۲۰ ppm باشد میزان آفلاتوکسین M_1 شیر آن دام در حد مجاز می‌باشد (۱۱). آفلاتوکسین M_1 نسبت به روش‌های معمول نگهداری و حرارتی مانند پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون از خود مقاومت نشان می‌دهد (۱۳). طبق آزمایش‌های صورت گرفته مشخص شده که پاستوریزاسیون غلظت آفلاتوکسین M_1 را تا حدودی کاهش می‌دهد و برخی این کاهش را تا ۷۵ درصد غلظت اولیه تخمین زده‌اند (۱۴).

مقدار مجاز آفلاتوکسین M_1 شیر در کشورهای مختلف متفاوت و به عوامل اقتصادی (۱۵) و عوامل دیگر وابسته است. حداکثر غلظت آفلاتوکسین M_1 در شیرخام در اتحادیه اروپا، ۵۰ نانوگرم در کیلوگرم (۱۶) و در کشور آمریکا ۵۰۰ نانوگرم در کیلوگرم می‌باشد (۱۷). حد مجاز در استاندارد ایران در سال ۱۳۸۹ بازبینی شده و از ۵۰۰ (۱۸) به ۱۰۰ نانوگرم در کیلوگرم کاهش داده شده است (۱۹). مطالعه‌ای در مورد اندازه‌گیری آفلاتوکسین M_1 در شیرخام دامداری در شهر بابل با روش الایزا نشان داد که میزان آفلاتوکسین ۱/۵ تا ۲ برابر بیش از حد مجاز کمیته اروپایی و غذایی Codex بود (۲۰).

در مطالعه‌ای که در تایوان انجام شد، ۱۱۳ نمونه شیرخام و پودر شیر و شیر خشک مورد آزمون قرار گرفتند و در هیچ‌کدام از نمونه‌ها آفلاتوکسین بالاتر از حد مجاز کشور تایوان نبود (۲۱).

با گسترش روش‌های نوین دامپروری و بالا رفتن رخداد بیماری‌ها در پرورش متراکم دام‌ها، استفاده از آنتی‌بیوتیک برای تضمین رشد و نمو مطلوب، کنترل ورم پستان و بیماری‌های سیستمیک و موضعی در

گله‌های گاو شیری رایج گشته است (۲۲). آنتی‌بیوتیک‌ها به طور معمول با دوز درمانی یا دوز پایین‌تر از دوز درمانی، به شکل تزریقی یا افزودنی به جیره غذایی روزانه دام مصرف می‌گردند. عدم رعایت دوز توصیه شده دارو و عدم توجه به مدت زمان مصرف دارو سبب حضور باقی‌مانده دارویی در مواد غذایی با منشأ دامی می‌شود (۲۳).

نظر به این که باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک‌ها در موادغذایی اثرات زیان‌بخشی در مصرف‌کنندگان ایجاد می‌کند، کنترل کیفی کلیه فرآورده‌های غذایی از نظر عاری بودن از باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک‌ها امری لازم و ضروری است (۲۴).

مشکلات بهداشتی گوناگونی همچون ایجاد واکنش‌های آلرژی‌زا، احتمال ایجاد سرطان یا موتاسیون (۲۴)، ایجاد میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و کاهش حساسیت در برابر درمان آنتی‌بیوتیک (۲۵) نگرانی در مورد وجود باقی‌مانده‌های دارویی در موادغذایی را به حدی افزایش داده است که سازمان‌های ناظر بر ایمنی غذا در سطح جهان، بر عاری بودن موادغذایی از این باقی‌مانده‌ها تأکید دارند. علاوه بر همه مسائل بهداشتی مطرح شده، احتمال ایجاد مشکلات صنعتی در تولید فرآورده‌های شیری در صورت وجود باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک در شیر، نیز مطرح است (۲۶).

در آنکارا، Ergin Kaya و Filazi به بررسی تعیین مازاد آنتی‌بیوتیک در نمونه‌های شیرخام و فرآوری‌های شیر پاستوریزه فروخته شده پرداختند و نسبت آلودگی با آنتی بیوتیک‌ها ۷۱/۷٪ بود (۲۷). در مطالعه Kang'ethe و همکاران در کنیا میزان آنتی‌بیوتیک‌ها در ۱۱۶ نمونه شیرخام و ۷۷۵ نمونه شیر پاستوریزه توسط روش غربالگری سریع میکروبی بررسی شد. نتایج نشان داد که تقریباً در ۷۶٪ از نمونه‌های شیر، آلودگی وجود داشت (۲۸). در مورد باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک و آفلاتوکسین M_1 در شیرخام مطالعات زیادی در سطح جهان (۳۱-۲۹) و چندین مطالعه نیز در استان‌های مختلف ایران انجام شده است (۳۴-۳۲)؛ اما از آنجایی که مقدار باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک و آفلاتوکسین M_1 شیر مناطق مختلف متفاوت است و تاکنون در استان خراسان شمالی مطالعه‌ای صورت نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف تعیین مقدار آفلاتوکسین M_1 و بقایای آنتی‌بیوتیک در شیرخام شهر بجنورد در فصول تابستان و پاییز انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی بود و ۴۰ نمونه شیرخام به طور تصادفی در فصل تابستان و پاییز سال ۱۳۹۵، از ۱۰ مرکز توزیع شیرخام سطح شهرستان بجنورد که زیر نظر معاونت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی بودند و از هر مرکز، ۴ نمونه جمع‌آوری شد. برای نمونه‌برداری به‌طور مستقیم از تانکر حامل شیرخام، ۲۵۰ تا ۵۰۰ سی‌سی شیر در ظروف شیشه‌ای (جهت سنجش آنتی‌بیوتیک) و پلی اتیلنی (جهت سنجش آفلاتوکسین) اخذ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و حداکثر ۲۴ ساعت بعد به آزمایشگاه معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی منتقل شد و در همان زمان از نظر مقدار آفلاتوکسین M_1 و بقایای آنتی‌بیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفت.

سنجش آفلاتوکسین M_1 از روش‌های متعددی، مانند کروماتوگرافی لایه نازک (TLC (Thin Layer Chromatography،

کروماتوگرافی مایع (Liquid Chromatography) LC، (Enzyme Link Immuno Sorbant Assay)ELISA و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) میسر است. در این پژوهش نمونه‌ها به روش الایزا مورد آزمون قرار گرفتند. میانگین آفلاتوکسین محاسبه شده با حد مجاز استاندارد ملی ایران که ۱۰۰ نانوگرم در لیتر بود، مقایسه شد (۳۵).

برای انجام آزمون الایزا ، ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه شیر را برداشته و در آزمایشگاه در دمای ۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه با دور xg ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس چربی رویی به وسیله پیپت پاستور کاملاً دور ریخته و مایع زیرین جهت آزمایش (AFM_1(Aflatoxin M_1 در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کیت‌های مورد استفاده از شرکت R-biopharm آلمان تهیه گردید که دارای حساسیت برابر با ۵ نانوگرم در لیتر بود. الایزا یک روش ایمونو آسی آنزیم رقابتی و بر پایه واکنش آنتی ژن- آنتی‌بادی است. چاهک‌های میکروتیتر با آنتی‌بادی بر علیه آفلاتوکسین M_1 پوشانده شد. پس از انجام این مراحل، جذب نمونه در طول موج nm ۴۵۰ در یک الایزا ریدر خوانده شد و پس از رسم منحنی غلظت AFM_1 مورد محاسبه قرار گرفت (۳۸-۳۶).

جهت تشخیص بقایای آنتی‌بیوتیک از آزمون کیت کوپن (Copan Milk Test, Chr. Hansen, Denmar) استفاده شد. کیت کوپن یک کیت آزمایشگاهی جهت پایش حضور آنتی بیوتیک‌ها در شیر به صورت کیفی است. آزمایش کوپن روشی سریع، اختصاصی و قابل اجرا در مراکز تولیدی و نظارتی است؛ اگرچه این روش میزان آلودگی شیر به هر کدام از آنتی‌بیوتیک‌های خاص را نشان نمی‌دهد؛ ولی قادر است اثر وجود چندین نوع آنتی‌بیوتیک و بازدارنده رشد میکروبی را نشان دهد که از نظر سلامتی نیز اهمیت بیشتری دارد. حساسیت و حد تشخیص این روش نیز بسیار بالا است. به طوری که می‌تواند وجود مقادیر جزئی آنتی‌بیوتیک‌ها را تشخیص دهد. برای مثال، آزمایش کوپن قادر است وجود پنی‌سیلین، کلوکساسیلین، سولفامتازین، سفالکسین و جنتامایسین را در حد برابر یا کمتر از حد مجاز باقی مانده آن‌ها در استاندارد اتحادیه اروپا تشخیص دهد.

ابتدا نمونه‌های شیر آماده شدند. سپس برای انجام آزمون، ابتدا با پیپت،۱۰۰ میکرولیتر از نمونه شیر را برداشته و داخل لوله کیت ریخته و لوله در بن ماری ۱±۶۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت قرار گرفت. سپس نتایج با توجه به راهنمای کیت قرائت گردید. در صورت ایجاد رنگ ارغوانی نتیجه مثبت، رنگ زرد نتیجه منفی، بین ارغوانی و زرد بیشتر آن مثبت-/+ و بین زرد و خاکستری بیشتر آن منفی+/- گزارش گردید (۳۹).

اطلاعات جمع‌آوری شده از نمونه‌ها پس از تعیین غلظت در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹، سپس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. جهت توصیف داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی میانگین و انحراف معیار استفاده شد.

نتایج

بنابر آزمایش‌های صورت گرفته، در هیچ یک از نمونه‌های شیرخام باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک مشاهده نگردید.

در جدول ۱ نتایج آنالیز آفلاتوکسین موجود در شیر خام عرضه شده در سطح شهر بجنورد و مقایسه با استاندارد موجود ارائه شد. همان‌طور که در جدول مشخص است، بیشترین غلظت ۶۵ ppt و کمترین ۵/۱ ppt بود. میانگین غلظت آفلاتوکسین موجود در شیرخام ۱۶/۱۸ ppt بود که بسیار کمتر از استاندارد سازمان غذا و دارو (Food and Drug Association) FDA می‌باشد.

جدول ۱ : نتایج آزمون آفلاتوکسین M_1 موجود در شیر خام عرضه شده در سطح شهر بجنورد در سال ۱۳۹۵

میزان آفلاتوکسینM_1	غلظت بر حسب ppt
حداکثر	۶۵
حداقل	۵/۱
میانگین	۱۶/۱۸
انحراف از معیار	۱۵/۱
استاندارد FDA	۱۰۰

در جدول ۲ نتایج به تفکیک با توجه به استاندارد حد مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیرخام در ایران و استاندارد اتحادیه اروپا نشان داده شد.

جدول ۲: مقایسه مقدار آفلاتوکسین M_1 در شیرخام شهربجنورد با استاندارد ایران و اتحادیه اروپا

تعداد کل نمونه‌های جمع‌آوری شده	تعداد نمونه‌های شیر خام حاوی M_1>۱۰۰ppt آفلاتوکسین (استاندارد ایران)	تعداد نمونه‌های شیرخام حاوی ppt ۵۰ < M_1 آفلاتوکسین (استاندارد اروپا)
۴۰	۰	۳

بحث

در ایران در مورد آلودگی شیرخام به آفلاتوکسین M_1 و وجود آنتی‌بیوتیک در آن گزارش‌های مختلفی وجود دارد که نشان از آلودگی شیرخام بوده است (۲۰،۲۱،۲۹،۳۱). در این مطالعه میزان آلودگی شیرخام شهر بجنورد به آفلاتوکسین M_1 و وجود آنتی‌بیوتیک در آن به صورت کیفی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج این مطالعه نشان داد که شیرهای خام عرضه شده در سطح شهر بجنورد در فصول تابستان و پاییز فاقد آنتی‌بیوتیک است؛ اما در مطالعه‌ای که Ghidini و همکاران در کشور ایتالیا بر روی بقایای آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در شیر گاو به روش HPLC بر روی ۵۳ نمونه انجام گرفت، باقی‌مانده‌های بتالاکتام در ۴۹٪ نمونه‌ها مشاهده گردید (۴۰).

غنوی و همکاران طرح جامعی در مؤسسه استانداردها و تحقیقات صنعتی کشور در ارتباط با آلودگی شیر به بقایای آنتی‌بیوتیک در محل دریافت شیر در کارخانه‌های صنایع شیر ایران در سطح کشور و بر روی ۹۹۲ نمونه شیر به روش Beta star انجام دادند. نتایج به‌دست‌آمده نشان دهنده آلودگی به میزان ۲۷ درصد در شیرخام و ۵۳ درصد در شیر پاستوریزه

بود. در این تحقیق پاسخ‌های مشکوک نیز آلوده قلمداد شدند و در محاسبه درصد آلودگی در نظر گرفته شدند. بیشترین میزان آلودگی (۵۰ درصد) در شیرخام و پاستوریزه مربوط به آنتی‌بیوتیک بتالاکتام بود (۴۱).

متأسفانه در ایران مطالعات کمی بر روی میزان بقایای داروهای آنتی‌بیوتیکی در شیر انجام گرفته است. در مطالعه‌ای به بررسی باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک در شیرهای خام و پاستوریزه استان آذربایجان شرقی پرداخته شد، نتایج نشان داد که ۷۶٪ نمونه‌های شیر خام دامداری‌های صنعتی و ۷۶٪ از نمونه‌های شیرخام مراکز جمع‌آوری شیر و ۳۵٪ نمونه‌های شیر پاستوریزه، آلوده به انواع آنتی‌بیوتیک بودند (۴۲).

زرانگوش و مهدوی به بررسی باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک در شیرهای شهرستان‌های مراغه و بناب پرداختند. نتایج به دست آمده نشان داد در ۱۶/۷۶٪ نمونه‌های شیرخام گاوداری‌های صنعتی مراغه، ۶۱/۱۳٪ نمونه‌های شیرخام گاوداری‌های صنعتی بناب،۱/۳۱٪ نمونه‌های شیرخام گاوداری‌های سنتی مراغه و ۷۵٪ نمونه‌های شیرخام گاوداری‌های سنتی بناب، باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک مشاهده گردید (۴۳).

فروزان و همکاران به بررسی باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک در شیرهای پاستوریزه تولیدی استان آذربایجان غربی پرداختند و از مجموع ۱۶۱ نمونه شیر پاستوریزه، ۷۶/۳۵٪ نمونه‌ها آلوده به انواع آنتی‌بیوتیک بودند (۴۴).

در بخارست، رومانی Pogurschi و همکاران به شناسایی مازاد آنتی‌بیوتیک در نمونه‌های شیرخام از مناطق شهری پرداختند. از ۷۷۵ نمونه، مازاد آنتی‌بیوتیک در ۶۶ نمونه (۷۵٪) تشخیص داده شد (۴۵).

حضور بقایای آنتی‌بیوتیکی در شیر پاستوریزه و عدم تأثیر حرارت پاستوریزاسیون بر بقایای آنتی‌بیوتیکی در شیر مشهود است. علاوه بر فرآورده‌های لبنی این دام‌ها، در صورت ذبح، حضور بقایای آنتی‌بیوتیکی در گوشت و احشاء خوراکی آن‌ها دور از انتظار نخواهد بود. پیشنهاد می‌شود برنامه کنترل مستمری به جای کنترل‌های موقتی و موردی جهت تشخیص بازدارنده‌های رشد میکروبی و آنتی‌بیوتیک‌ها در کلیه مراکز جمع‌آوری و در دامداری‌ها و کارخانجات لبنی به اجرا گذاشته شود. همچنین به دلیل استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در فصول سرما پیشنهاد می‌گردد که میزان آنتی‌بیوتیک و نوع آن‌ها در فصل زمستان نیز پایش گردد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آفلاتوکسین تمامی نمونه‌ها کمتر از حد استاندارد ایران (۱۰۰ نانوگرم در لیتر) و FDA و استاندارد کدکس Alimentarius Codex (حداکثر مجاز باقی‌مانده آفلاتوکسین M_1 در شیر ۵ میکروگرم در لیتر) می‌باشد (۴۶،۴۷). علت این امر می‌تواند به علت شرایط خوب نگهداری خوراک دام و دسترسی به علوفه تازه در فصل تابستان به علت کوچ دام به مناطق ییلاقی و خشک بودن نسبی هوای ارتفاعات که باعث کاهش رشد و تولید سم آفلاتوکسین در شیر و چرای آزاد دام‌ها به جای غذاهای انبار شده می‌شود، باشد؛ اما می‌توان ادعا کرد که اگر نمونه‌برداری در فصل زمستان انجام می‌گرفت، رطوبت بالا و دمای معتدل باعث رشد قارچ بر روی علوفه انباری، نان خشک و غلات انباری و تولید آفلاتوکسین در خوراک دام و انتقال آن به شیر خام می‌شد.

در کشور مکزیک بررسی ۲۹۰ نمونه شیر پاستوریزه از طریق HPLC وجود آلودگی با آفلاتوکسین M_1 را

تأیید نمود و سطوح بیشتر غلظت آفلاتوکسین M_1 در فصل گـرم مشاهده شد (۴۸). در مـطالعه‌ای دیگر در کشور کویت که قسمتی از آن روی بررسی آلودگی‌های محیطی در موادغذایی به خصوص شیر بود، ۲۸ درصد از نمونه‌های شیر آلوده به سم آفلاتوکسین M_1 بودند و غلظت سم در ۶ درصد آن‌ها بیشتر از ۰/۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود (۴۹). بررسی شیرخام، پاستوریزه و استریل در مکزیک، آلودگی به آفلاتوکسین M_1 را نشان داد و در یک مطالعه دیگر ۴۰ درصد نمونه‌های جمع‌آوری شده بیش از ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر حاوی آفلاتوکسین M_1 بودند (۵۰،۵۱). نمونه‌برداری شیر از سوپر مارکت‌های شهر Ribeirao کشور برزیل نشان داد که حدود ۲۱٪ نمونه‌ها به آفلاتوکسین M_1 آلوده بودند و مقدار آن برابر ۵۰-۲۴ نانوگرم در لیتر بوده است. همچنین آلودگی شیرهای پاستوریزه و استریل در برزیل، مشکل جدی برای مردم محسوب نمی‌گردد؛ اما باید تحقیقات بیشتری انجام گردد (۵۲). تحقیقات بر روی شیرخام در آلبانی نشان داد که مقدار آفلاتوکسین M_1 در شیرهای زمستانی بیشتر از شیرهای تابستانی می‌باشد (۵۳).

طبق مطالعات صورت گرفته مشخص شد میزان آلودگی به AFM_1 در ۱۰۰ درصد نمونه‌های شیر جمع‌آوری شده از شهرهای ارومیه، کرمانشاه، اردبیل، تبریز (غرب کشور) مشهد (شرق کشور)، گیلان، بابل (شمال کشور)، اهواز (جنوب کشور)، اراک، یزد، اصفهان، تهران (مرکز کشور) مشاهده شد و در این بین شهرهای کرمانشاه با ۱۲۱۰ و اصفهان با ۱ نانوگرم بر لیتر به ترتیب از بیشترین و کمترین میانگین میزان AFM_1 در شیر برخوردار بودند. قابل ذکر است که دامنه آلودگی در کرمانشاه و اصفهان به ترتیب برابر با ng/l ۲۴۲۰-۴۰۰ و ng/l ۳۵-۱۰ می‌باشد (۵۷-۵۴). مـطالعه پـورنورمحمدی در استان کرمان نشان داد که نمونه‌های شیر بررسی شده از شهر جیرفـت دارای کمتـرین میـزان آلـودگی بودنـد (۵۸). مطالعه روند آلودگی شیرخام از سال ۸۹-۱۳۸۱ در تهران نشان می‌دهد که آلـودگی شـیرخـام پـس از گذشت ۸ سال به میزان ۱۶٪ و حدود ۳۶ نانوگرم بـر لیتر کاهش یافته است (۵۹).

فرآیندهای حرارتی، عدم حضور سم آفلاتوکسین در شیر و فرآورده‌های آن را تضمین نمی‌کند. وجود این ماده خطرناک و بسیار سمّی در شیر، اهمیت فوق‌العاده زیادی دارد. وجود شیری عاری از آفلاتوکسین مطلوب جوامع بوده؛ اما دستیابی به این ایده‌آل، کار راحتی نیست. بر این اساس ضوابط و استانداردهایی جهت کاهش این سم در شیر و فرآورده‌های آن تنظیم شده است. البته محدوده‌های تعیین شده توسط استاندارد به طور وسیعی متغیر بوده و اصول علمی ظریفی در تنظیم آن‌ها نقش دارد. به نظر می‌رسد حضور سم مورد مطالعه با تغذیه دام‌های شیرده مرتبط باشد و قابل تأمل این است که در کشور ما تقریباً هیچ‌گونه کنترل بهداشتی بر روی کیفیت شیر صورت نمی‌گیرد. در ایران در شیر دام شیوع آفلاتوکسین M_1، گسترش فراوانی داشته و به این دلیل لازم است این دسته از فرآورده‌های غذایی به طور مستمر مورد پایش قرار گیرند. شیوع آفلاتوکسین و وجود بقایای آنتی‌بیوتیک در شیر خطرات جبران‌ناپذیری را بر سلامت انسان تحمیل نموده، از این رو کنترل دوره‌ای و مستمر امری حیاتی است.

یک محدودیت مطالعه این بود که از تمام فصول سال نمونه‌گیری انجام نشد؛ لذا با تـوجه به مـشاهده

اختلاف فصلی بقایای آنتی‌بیوتیک و آفلاتوکسین پیشنهاد می‌گردد که کنترل و پایش‌های فصلی صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

میزان آنتی‌بیوتیک و آفلاتوکسین M_1 در شیرهای خام سطح بجنورد در حد قابل قبول بود؛ اما بررسی مستمر باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک و سم آفلاتوکسین در شیرخام در تمام فصول توصیه می‌گردد.

با توجه به این که پژوهش‌های مختلفی در زمینه بررسی آفلاتوکسین و بقایای آنتی‌بیوتیک در شیر در ایران و دنیا انجام شده است و آلودگی به آفلاتوکسین و بقایای آنتی‌بیوتیک در شیر شیوع بالایی دارد، بررسی علل و منابع آلودگی لازم است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی با کد طرح ۷۹۲ پ۹۳ است که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی و همکاری معاونت غذا و دارو و مرکز گیاهان دارویی انجام گرفت. از همکاری صمیمانه همه عزیزان تقدیر و تشکر ویژه به عمل می‌آید.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

References

1. Ito Y, Peterson SW, Wicklaw DT, Goto T. Aspergillus pseudotamarii, a new aflatoxin producing species Aspergillus section Flavi. Mycal Res 2001;105(2): 233-9.

2. Karim G, Kamkar A. A study on the effect of lactoperoxidase system (LPS) and LPS plus riboflavin on the aflatoxin M1 in milk. Journal of Veterinary Research 2001;55(4): 5-7.

3. Assem E, Mohamad A, Oula EA. A survey on the occurrence of aflatoxin M_1 in raw and processed milk samples marketed in Lebanon. Food Control 2011;22(12):1856-8. doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.026

4. Sadia A, Jabbar MA, Deng Y, Hussain EA, Riffat S, Naveed S, et al. A survey of aflatoxin M1 in milk and sweets of Punjab, Pakistan. Food Control 2012;26(2):235-40. doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.01.055

5. Nemati M, Mehran MA, Hamed PK, Masoud A. A survey on the occurrence of aflatoxin M_1 in milk samples in Ardabil, Iran. Food Control 2010;21(7):1022-4. doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.12.021

6. Mohamadi Sani A, Nikpooyan H, Moshiri R. Aflatoxin M1 contamination and antibiotic residue in milk in Khorasan province, Iran. Food Chem Toxicol 2010;48(8-9):2130-2. doi: 10.1016/j.fct.2010.05.015.

7. Food and Agriculture Organization (FAO), World Health Organization (WHO). Eighty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain contaminants in food. [cited 2017 Feb 15]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254893/9789241210027-eng.pdf?sequence=1

8. Zinedine A, Gonzalez-Osnaya L, Soriano JM, Molto JC, Idrissi L, Manes J. Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. Int J Food Microbiol 2007;114(1):25-9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.11.001

9. Soha S, Borji M. Reduction of aflatoxin M1 residue in milk utilizing chemisorption compounds and its effect on quality of milk. Pajouhesh-Va-Sazandegi 2007; 19(1): 19-26. Persian

10. Aycicek H, Yarsan E, Sarimehmetoglu B, Cakmak O. Aflatoxin M1 in white cheese and butter consumed in Istanbul, Turkey. Vet Hum Toxicol 2002;44(5):295-6.

11. Chopra RC, Chhabra A, Prasad KS, Dudhe A, Murthy TN, Prasad T. Carryover of Aflatoxin Mt in Milk of Cows Fed Aflatoxin B1 contaminated ration. Indian Journal of Animal Nutrition. 1999;16(2):103-6.

12. Kocabas CN, Sekerel BE. Does systemic exposure to aflatoxin B(1) cause allergic

sensitization? Allergy 2003;58(4):363-5. doi.org/10.1034/j.1398-9995.2003.00086.x
13. Ghazani MH. Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Tabriz (northwest of Iran). Food Chem Toxicol 2009;47(7):1624-5. doi: 10.1016/j.fct.2009.04.011.
14. Deveci O. Changes in the concentration of aflatoxin M1 during manufacture and storage of White Pickled cheese. Food Control 2007;18(9):1103-7.
doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.07.012
15. Nuryono N, Agus A, Wedhastri S, Maryudani YB, Sigit Setyabudi FMC, Böhm J, et al. A limited survey of aflatoxin M1 in milk from Indonesia by ELISA. Food Control. 2009;20(8):721-4. doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.09.005
16. Europen Commission. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union 2006; 5-24.
17. Creppy EE. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. Toxicol Lett. 2002;127(1-3):19-28. doi.org/10.1016/S0378-4274(01)00479-9
18. Nazari A, Noroozi H, Movahedi M, Khaksarian M. Measurement of Aflatoxin M1 in Raw and Pasteurized Cow Milk Samples by HPLC. Yafteh 2007; 9(3): 49-56. Persian
19. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. No.: 2592. Mycotoxins maximum permissible level in food and feed. Tehran: ISIR; 2009.
20. Gholampour Azizi I, Khoushnevis SH, Hashemi S J. Aflatoxin M1 level in pasteurized and sterilized milk of Babol city. Tehran Univ Med J 2008; 65(13):20-4. Persian
21. Lin LC, Liu FM, Fu YM, Shih DY. Survey of aflatoxin M1 contamination of dairy products in Taiwan. Journal of Food and Drug Analysis 2004; 12(2): 154-60.
22. Fallah Rad AH, Mohsenzade M, Assadpur HR. Determination of gentamicin residues in the raw milk delivered to Mashhad pasteurization plant and in the pasteurized milk obtained from the same raw milk. Agricultural Sciences and Technology 2006; 20(7): 183-9. Persian
23. Meyer MT, Bumgarner JE, Varns JL, Daughtridge JV, Thurman EM, Hostetler KA. Use of radioimmunoassay as a screen for antibiotics in confined animal feeding operations and confirmation by liquid chromatography/mass spectrometry. Sci Total Environ 2000;248(2-3):181-7. doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00541-0
24. Rahimi E, Bonyadian M, Rafei M, Kazemeini HR. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. Food Chem Toxicol 2010;48(1):129-31. doi: 10.1016/j.fct.2009.09.028.
25. Fallah AA. Assessment of aflatoxin M1 contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. Food Chem Toxicol 2010;48(3):988-91. doi: 10.1016/j.fct.2010.01.014.
26. Katla AK, Kruse H, Johnsen G, Herikstad H. Antimicrobial susceptibility of starter culture bacteria used in Norwegian dairy products. Int J Food Microbiol 2001;67(1-2):147-52. doi.org/10.1016/S01681605(00)00522-5
27. Ergin Kaya S, Filazi A. Determination of Antibiotic Residues in Milk Samples. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2010; 16(Suppl-A):S31-S5. doi:10.9775/kvfd.2009.1174
28. Kang'ethe EK, Aboge GO, Arimi SM, Kanja LW, Omore AO, McDermott, JJ. Investigation of the risk of consuming marketed milk with antimicrobial residues in Kenya. Food Control 2005; 16(4):349-55. doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.03.015
29. Rastogi S, Dwivedi PD, Khanna SK, Das M. Detection of Aflatoxin M1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. Food Control 2004;15(4):287-90. doi: 10.1016/S0956-7135(03)00078-1
30. Lopez C, Ramos L, Ramadan S, Bulacio L, Perez J. Distribution of aflatoxin M1 in cheese obtained from milk artificially contaminated. Int J Food Microbiol 2001;64(1-2):211-5. doi: 10.1016/S0168-1605(00)00444-X
31. Bakirci I. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. Food Control 2001;12(1):47-51.
32. Sepehr S, Amin J, Masoomeh G, Sahab SH. Detection and occurance of aflatoxin M1 levels in milk and white cheese produce in Esfahan State Iran. Research Journal of Biological Sciences 2012; 7(5): 225-9. doi: 10.3923/rjbsci.2012.225.229
33. Movasagh MH, Khodabandeloo E, Movasagh A. Detection of aflatoxin M1 in cow's raw milk in Miandoab city, West Aazerbaijan province, Iran. Global Veterinaria 2011; 6(3):313-15.
34. Maktabi S, Hajikolaie MR, Ghorbanpour M, Pourmehdi M. Determination of aflatoxin M1 in UHT, pasteurized and GSM milks in Ahvaz (south-west of Iran) using Elisa. Global Veterinaria. 2011;7(1):31-4.
35. Mohammadian B, Khezri M, Ghasemipour N, Mafakheri S, Poorghafour Langroudi P. Aflatoxin M1 contamination of raw and pasteurized milk produced in Sanandaj, Iran. Archives of Razi Institute. 2010;65(2):99-104. Persian doi: 10.22092/ari.2010.10385
36. Mohamadi Sani A, Khezri M, Moradnia H. Determination of aflatoxin M1 in milk by ELISA technique in Mashad (Northeast of Iran). ISRN Toxicol 2012;2012:121926. doi: 10.5402/2012/121926.
37. Kim EK, Shon DH, Ryu D, Park JW, Hwang HJ, Kim YB. Occurrence of aflatoxin M1 in

Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. Food Addit Contam 2000;17(1):59-64. doi:10.1080/026520300283595
38. Maqbool U, Ahmad M, Anwar-ul-Haq H, Iqbal MM. Determination of aflatoxin-B1 in poultry feed and its components employing enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Toxicological & Environmental Chemistry 2004; 86(4): 213-8. doi.org/10.1080/02772240400007138
39. Akbari Kishi S, Asmar M, Mirpur MS. The study of antibiotic residues in raw and pasteurized milk in Gilan province. Iran J Med Microbiol 2017;11(3):71-7. Persian
40. Ghidini S, Zanardi E, Varisco G, Ghizzolini, R. Prevalence of molecules of ß-lactam antibiotics in bovine milk in lombardia and emilia romagna (ITALY). Ann Fac Medic Vet di Parma 2002; 22, 245-52.
41. Ghanavi Z, Mollayi S, Eslami Z. Comparison between the amount of penicillin G residue in raw and pasteurized milk in iran. Jundishapur Journal of Microbiology 2013; 6(7): e12724. doi: 10.5812/jjm.12724
42. Manafi M, Hesari J, Rafat SA. Monitoring of antibiotic residue in raw and pasteurised milk in east Azerbaijan of Iran by delvotest method. Journal of Food Research 2010; 20(2): 125-31. Persian
43. Zarangush Z, Mahdavi S. Determination of antibiotic residues in pasteurized and raw milk in Maragheh and Bonab counties by Four Plate Test (FPT) method. Journal of Ilam University of Medical Sciences 2016;24(5):48-54. Persian
44. Forouzan S, Rahimirad A, Seyedkhoei R, Asadzadeh J, Bahmani M. Determination of antibiotic residues in the pasteurized milk produced in West Azerbaijan province, North West of Iran. Journal of Coastal Life Medicine 2014; 2(4):297-301.
45. Pogurschi E, Ciric A, Zugrav C, Patrascu D. Identification of antibiotic residues in raw milk samples coming from the metropolitan area of Bucharest. Agriculture and Agricultural Science Procedia 2015;6:242-5. doi.org/10.1016/j.aaspro.2015.08.066
46. Codex Aliment Arius Commissions. Comments Submitted On The Draft Maximum Level for Aflatoxin M_1 in Milk. Codex committee on food additives and cotaminants. Codex Committee on Food Additives and Contaminants 33rd Session; 2001 Mar 12-16; The Hague, The Netherlands: Food and Agriculture Organization of The United Nations, World Health Organization The United Nations; 2001.
47. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. No.5925. Food & Feed-Mycotoxins-Maximum tolerated level. 1th ed. Tehran: ISIRI, 2002.
48. Carvajal M, Bolanos A, Rojo F, Mendez I. Aflatoxin M1 in pasteurized and ultrapasteurized milk with different fat content in Mexico. J Food Prot 2003;66(10):1885-92. doi.org/10.4315/0362-028X-66.10.1885
49. Srivastava VP, Bu-Abbas A, Alaa B, Al-Johar W, Al-Mufti S, Siddiqui MK. Aflatoxin M1 contamination in commercial samples of milk and dairy products in Kuwait. Food Addit Contam 2001;18(11):993-7. doi:10.1080/02652030110050357
50. Carvajal M, Rojo F, Mendez I, Bolanos A. Aflatoxin B1 and its interconverting metabolite aflatoxicol in milk: the situation in Mexico. Food Addit Contam 2003;20(11):1077-86. doi: 10.1080/02652030310001594478
51. Garrido NS, Iha MH, Santos Ortolani MR, Duarte Favaro RM. Occurrence of aflatoxins M(1) and M(2) in milk commercialized in Ribeirao Preto-SP, Brazil. Food Addit Contam 2003;20(1):70-3. doi: 10.1080/0265203021000035371
52. Panariti E. Seasonal variations of aflatoxin M1 in the farm milk in Albania. Arh Hig Rada Toksikol 2001;52(1):37-41.
53. Tajkarimi M, Aliabadi-Sh F, Salah Nejad A, Poursoltani H, Motallebi AA, Mahdavi H. Aflatoxin M1 contamination in winter and summer milk in 14 states in Iran. Food Control 2008;19(11):1033-6.
54. Sadeghi E, Almasi A, Bohloli-Oskoii S, Mohamadi M. The evaluation of aflatoxin M_1 level in collected raw milk for pasteurized dairy factories of Kermanshah. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences 2013;15(3):26-9.
55. Tajkarimi M, Shojaee Aliabadi F, Salah Nejad M, Pursoltani H, Motallebi AA, Mahdavi H. Seasonal study of aflatoxin M_1 contamination in milk in five regions in Iran. Int J Food Microbiol 2007;116(3):346-9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.02.008
56. Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. Food Control 2005;16(7):593-9.
57. Tajkarimi M, Ghaemmaghami SS, Motalebi A, Poursoltani H, Salahnejad A, Shojaee F. Seasonal survey in content M1 aflatoxin in raw milk taken from 15 dairy factory. Pajouhesh & Sazandegi 2007; 75: 2-9. Persian
58. Pournormohammadi S, Ansari M, Nezafati olfati L, Kazemipour M, Hasibi M. Determination of Aflatoxin M1 in pasteurized milk consumed in Kerman province. Journal of Kerman University of Medical Sciences 2009;16(3):271-80. Persian
59. Riazipour M, Tavakoli HR, Razaghi Abyaneh M, Rafati H, Sadr Momtaz MT. Measuring the amount of M_1 Aflatoxin in pasteurized milks. Kowsar Medical Journal 2010; 2(15): 89-93. Persian

Health and Development Journal Original Article

Vol. 8, No. 1, Spring 2019 Received: 17.02.2018 Accepted: 08.08.2018

The Aflatoxin M_1 level and Antibiotic Residues in raw milk supplied across the city of Bojnurd in 2016

Majid Kermani[1], Ahmad Yazdani[2], Seyedeh Nastaran Asadzadeh[3,4], Ahmad Rajabizadeh[5], Hamideh Nikoozadeh[6], Nima Firouzeh[7], Mitra Hashemi[8]

Abstract

Background: Milk is considered as one of the most complete foods, consumption of raw milk contained with aflatoxin M_1 and antibiotics has raised consumer concerns. The aim of this study was to determine the level of aflatoxin and antibiotic residues in raw milk in Bojnurd, Khorasan province, Iran.

Methods: In this study, 40 samples of raw milk from their distribution centers in the city of Bojnourd, were taken randomly in summer and fall of 2016. Samples were evaluated for aflatoxin and antibiotic residues by ELISA method and Coupons kit respectively. Descriptive statistics including means and standard deviations were used to summarize the data. Data was analyzed with SPSS 19.

Results: According to the results, no residues of antibiotics were found in raw milk and the aflatoxin concentrations were between 5.1 and 65 ng per ml and the levels were lower than the Iran standards in all samples.

Conclusion: According to the results, antibiotics residues and aflatoxin M_1 levels in raw milk of Bojnoord city are within the acceptable level. However, it is recommended to evaluate these parameters in all seasons.

Keywords: Aflatoxin M_1, Antibiotics, ELISA, Raw milk

Citation: Kermani M, Yazdani A, Asadzadeh SN, Rajabizadeh A, Nikoozadeh H, Firouzeh N, et al. Aflatoxin M1 level and Antibiotic Residues in raw milk supplied across the city of Bojnurd in 2016. Health and Development Journal 2019; 8(1): 72-82. [In Persian] doi: 10.22034/8.1.1.72

© 2019 The Author(s). This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1- Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Laboratory Director, Food and Drug Administration, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
3- MSc, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
4- PhD Student, Student Research Committee, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
5- Lecturer, Environmental Health Engineering Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
6- Laboratory Technician, Food and Drug Administration, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
7- PhD Student, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
8- MSc, Deputy of Research, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
Corresponding Author: Seyedeh Nastaran Asadzadeh **Email:** snasadzade@kmu.ac.ir
Address: Department of Environmental Health Engineering, University of North Khorasan, Bojnurd, Iran
Tel: 09150896588 **Fax:** 05832223151