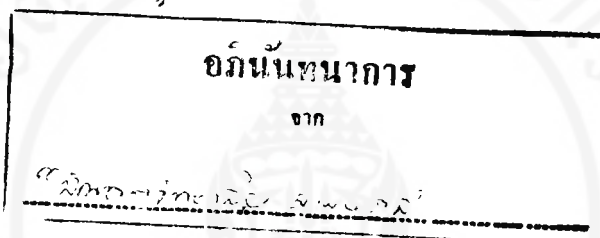




7 JUL 1993

MONITORING OF HUMAN INTRAUTERINE AFLATOXIN
EXPOSURE

MUKDA SRISAKULTHONG



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE (TOXICOLOGY)

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1993

Copyright by Mahidol University

23157

ชื่อวิทยานิพนธ์ การติดตามการได้รับอฟลาทอกซินระหว่างอยู่ในครรภ์ของ
เด็กแรกเกิด

ผู้วิจัย มุกดา ศรีสกุลทอง

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พิษวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

กำพล ศรีวัฒนกุล , พ.บ.,ปรด.

กรองทอง ยูถาวร , ภ.บ.,ปรด.

กิตติมา ศรีวัฒนกุล , Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 21 เมษายน พ.ศ. 2536

บทคัดย่อ

รายงานการวิจัยก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าสารอฟลาทอกซิน(AF) สามารถผ่านจากมารดาสู่ทารกในครรภ์โดยทางรกได้ทั้งในคนและสัตว์ทดลอง สารชนิดนี้ก่อให้เกิดผลเสียต่อตัวอ่อนได้คือ การตายในครรภ์ การเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ การเกิดทารกวิรูปและการก่อเนื้องอกในตัวอ่อนของสัตว์ทดลอง จากการศึกษาในปี พ.ศ.2530 ในจังหวัดสงขลาพบว่า 48% ของตัวอย่างเลือดที่ได้จากสายสะดือของทารกมีสาร AFปนอยู่ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อติดตามการได้รับสาร AFของทารกในครรภ์ของมารดาที่อาศัยอยู่ในพื้นที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร นนทบุรี และสมุทรปราการ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เคยมีรายงานว่าอาหารถูกปนเปื้อนด้วยสาร AF และปริมาณการบริโภคสารนี้เข้าสู่ร่างกายของประชากรที่อาศัยอยู่ในบริเวณนี้สูงกว่าประชากรที่อาศัยอยู่ในจังหวัดสงขลา การวิเคราะห์หาปริมาณสาร AF ในปัสสาวะทำโดยวิธีการ ELISA ซึ่งใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดีที่เฉพาะเจาะจงต่อสารอฟลาทอกซินบีหนึ่ง (AFB₁) โดยเก็บตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 100 ตัวอย่างจากเด็กแรกคลอดภายใน 24 ชั่วโมงหลังคลอด ตัวอย่างปัสสาวะทั้งหมดทำให้บริสุทธิ์โดยการผ่าน Sep-Pak C18 Cartridges และวิเคราะห์หาความเข้มข้น

ของสารครีเอทีนในปัสสาวะ เพื่อปรับค่าเบี่ยงเบนที่เกิดจากความเข้มข้นและปริมาณปัสสาวะของแต่ละตัวอย่างเพื่อวัตถุประสงค์ในการเปรียบเทียบทางสถิติ จากการทดลองนี้พบว่าปริมาณสารเทียบเท่า AFB₁ ในปัสสาวะมีพิสัยอยู่ระหว่าง 0.69-6.90 นาโนกรัม AFB₁ ต่อมิลลิกรัมครีเอทีนและมีค่าเฉลี่ย 2.23 นาโนกรัม AFB₁ ต่อมิลลิกรัมครีเอทีน

นอกจากนี้ เพื่อเป็นการตรวจสอบสารที่อาจมีผลรบกวนการทดลอง ได้เก็บตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 101 ตัวอย่างจากเด็กเล็กที่ได้รับอาหารที่ปราศจากสาร AF คือ นมผงที่ได้มาตรฐานและผ่านการตรวจสอบแล้วว่าปราศจากสาร AF โดยเลือกเด็กเล็กอายุ 19 วันถึง 90 วันที่มีภูมิลำเนาอยู่ในพื้นที่เดียวกับเด็กแรกเกิดปัสสาวะทั้งหมดผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์และวิเคราะห์ปริมาณสาร AF โดยวิธีเดียวกับการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะเด็กแรกเกิด และตัวอย่างปัสสาวะบางส่วนได้ถูกวิเคราะห์ซ้ำโดยวิธี HPLC ผลการวิเคราะห์โดยวิธี ELISA พบว่าปริมาณสารเทียบเท่า AFB₁ ในปัสสาวะของเด็กเล็กมีพิสัยอยู่ระหว่าง 0.48-19.00 นาโนกรัม AFB₁ ต่อมิลลิกรัมครีเอทีนโดยมีค่าเฉลี่ย 5.44 นาโนกรัม AFB₁ ต่อมิลลิกรัมครีเอทีน และผลการตรวจโดยวิธี HPLC ไม่พบว่ามีสารนี้อยู่ในตัวอย่างปัสสาวะ

จากข้อมูลที่ได้สามารถบ่งบอกได้ว่าค่าที่วัดได้โดยวิธี ELISA ในการทดลองครั้งนี้เป็นผลของสารที่มีผลรบกวนการทดลองซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับ AFB₁ และสามารถทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่ใช้ได้ อย่างไรก็ตามผลการตรวจวัดระดับสาร AF โดยวิธี HPLC ไม่ได้แสดงว่าเด็กแรกเกิดและเด็กเล็กที่มีภูมิลำเนาอยู่ในกรุงเทพมหานคร และจังหวัดใกล้เคียงได้รับสารนี้ในปริมาณที่สูง

Sep-Pak C₁₈ cartridges before analyzing with ELISA using polyclonal antibody raised against AFB₁. Creatinine concentrations were determined to correct for interindividual variations in volumes voided. Urinary AF levels were detected in the range of 0.69-6.90 ng AFB₁ equivalent/mg creatinine with the average level of 2.23 ng AFB₁ equivalent/mg creatinine.

In order to determine the existence of urinary aflatoxin-like substances (UALS) when using ELISA method, 101 single voided urine samples of healthy infants, who were fed on AF-free diet (only powder milk) and lived in the same area as the neonates, were collected. All urine samples were quantified for urinary AF levels by the same procedures as those employed in the neonates. Some of these urine samples were also verified by HPLC technique. The levels ranging from 0.48 to 19.00 ng AFB₁ equivalent/mg creatinine, with the mean of 5.44 ng AFB₁ equivalent/mg creatinine were found by ELISA method. However, the levels of AF were not detected by HPLC technique.

These findings indicated that the detectable values shown by ELISA in this study were due to the presence of the interference substances known as UALS. However, the data obtained from HPLC analysis did not suggest significantly high AF exposure in the neonates and infants living in Bangkok and neighboring provinces.