

## بررسی باقیمانده آنتی بیوتیک در نمونه‌های شیر خام تهیه شده از گاوهای شهرستان بروجرد

رضا زندیه مرادی<sup>۱</sup>، محمدمهدی سلطان دلال<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد باکتری‌شناسی مواد غذایی، بخش میکروبی‌شناسی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
<sup>۲</sup> استاد، گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده بهداشت/ مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

### اطلاعات مقاله

دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۲۷

پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۲۵

### \*مؤلف مسئول

محمدمهدی سلطان دلال

ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، بخش میکروبی‌شناسی مواد غذایی/ مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد.

تلفن: ۰۲۱ ۸۸۹۹۲۹۷۱

پست الکترونیکی:

msoltandallal@gmail.com

### چکیده

**مقدمه:** استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به جهت کنترل و درمان بیماری‌های عفونی در حیوانات اهلی و دام‌ها و هم‌چنین به منظور تحریک رشد دام، در دامداری‌ها رواج دارد. از نظر استانداردهای بین‌المللی وجود آنتی‌بیوتیک‌ها در شیر و فرآورده‌های شیری قابل تحمل نمی‌باشند زیرا که ممکن است در مصرف‌کننده موجب عکس‌العمل‌های آلرژیک و مشکلات گوارشی گردد. تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها پس از استفاده تا مدتی، در شیر خام ظاهر می‌شوند و در نتیجه مصرف چنین محصولی موجب انتقال آنتی‌بیوتیک مذکور به بدن فرد مصرف‌کننده می‌گردد. این مطالعه با هدف ارزیابی باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک در شیر خام جمع‌آوری شده از گاوهای شهرستان بروجرد صورت گرفت. هدف از این پژوهش شناسایی باقیمانده آنتی‌بیوتیک در شیرهای خام تولید شده در شهرستان بروجرد می‌باشد.

**روش کار:** در یک مطالعه توصیفی تعداد ۱۵۰ نمونه شیر خام در فاصله ماه‌های آبان و آذر سال ۹۴ از میان گاو‌داری‌های صنعتی و سنتی مناطق مختلف روستایی شهرستان بروجرد جمع‌آوری شد. سپس این نمونه‌ها با استفاده از آزمون کاپن، از نظر باقیمانده آنتی‌بیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** از میان ۱۵۰ نمونه مورد ارزیابی، تعداد ۳۰ نمونه (۲۰ درصد) از نظر وجود آنتی‌بیوتیک با روش مورد اشاره مثبت بود.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد با توجه به رواج مصرف آنتی‌بیوتیک در دامداری‌ها، نیازمند مطالعات کامل‌تری به منظور تعیین دقیق نوع آنتی‌بیوتیک مصرفی و همچنین میزان آنتی‌بیوتیک مصرفی در شیرهای تولیدی در کشور هستیم.

**کلید واژه‌ها:** شیر خام، دامداری، باقیمانده آنتی‌بیوتیک

## Evaluating the amount of antibiotic residues in raw milk samples obtained from cows in Borujerd city

Original Article

Reza Zandieh Moradi<sup>1</sup>, Mohammad Mehdi Soltan Dallal<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> MSc Student in Food Microbiology, Department of Food Microbiology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Professor, Department of Microbiology, School of Public Health /Food Microbiology Research Centre, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### Abstract

**Introduction:** Using the antibiotics is common in feedlots for domestic animals and livestock in order to control and cure their infectious diseases and for their growth. From the viewpoint of international standards, the presence of antibiotics in milk and other dairy products is not acceptable because they may cause allergic reactions and digestion problems in the consumers. All antibiotics can remain in the milk of an animal for a while after it takes them. Therefore, drinking the milk may cause the antibiotics to be transferred to the body of the consumers. The present study aims to analyze the antibiotic residues in the raw milk collected from different cows in Borujerd city.

**Methods:** In order to do a descriptive study, 150 raw milk samples were collected from the cows in several traditional and modern feedlots in rural areas of Borujerd city in November and December 2015. Then the samples were tested for antibiotic residues using the COPAN test.

**Results:** 30 samples (20%) of all the 150 tested samples were positive in terms of antibiotic residues after being tested with the above-mentioned method.

**Conclusion:** It seems as if with the increase in using antibiotics in feedlots, more elaborate studies are needed to specify the type and amount of the remaining of antibiotics in raw milk and dairy products in the country.

**Keywords:** Raw milk, Feedlot, Antibiotic Residues.

### Article Info

Received: Sep. 18, 2017  
Accepted: Dec. 16, 2017

\*Corresponding Author:  
Mohammad Mehdi Soltan  
Dallal

Department of  
Microbiology, School of  
Public Health /Food  
Microbiology Research  
Centre, Tehran University  
of Medical Sciences,  
Tehran, Iran

Tel: +982188992971

Email:  
msoltandallal@gmail.com

### Vancouver referencing:

Zandieh Moradi R, Soltan Dallal MM. Evaluating the amount of antibiotic residues in raw milk samples obtained from cows in Borujerd city. *Journal of Jiroft University of Medical Sciences* 2017; 3(3): 193-200.

## مقدمه

شیر خام تولید شده در دامداری‌ها در معرض آلودگی‌های مختلفی قرار دارد که از آن جمله می‌توان به آلاینده‌های شیمیایی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، ضد عفونی کننده‌ها، نیترات‌ها و نیتريت‌ها، حشره‌کش‌ها و فلزات سمی اشاره نمود (۱). آنتی‌بیوتیک‌ها مواد ضد میکروبی هستند که محصول متابولیسم ثانویه میکروارگانیسم‌ها می‌باشند که در غلظت‌های پایین قادر به تخریب باکتری‌ها یا ممانعت از رشد آن‌ها از طریق تأثیر بر عناصر ساختمانی یا متابولیسی مورد نیاز برای زندگی آن‌ها هستند (۲). متابولیت‌های ثانویه ترکیباتی هستند که برخلاف متابولیت‌های اولیه برای رشد و تولید مثل ضروری نیستند و به دلایل متنوعی توسط میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند (۳). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها جهت کنترل و درمان بیماری‌های عفونی و همچنین به منظور تحریک رشد در دامداری‌ها رایج است. بیماری ورم پستان شایع‌ترین مورد مصرف آنتی‌بیوتیک در گاوداری به حساب می‌آید. چنانچه آنتی‌بیوتیک‌ها در غلظت‌های کمتر از حد درمانی (۱۰-۱ میلی‌گرم در هر خوراک) در دوره‌های طولانی مدت استفاده شوند سبب افزایش سرعت رشد حیوان می‌شوند. در این حالت خوراک دام با راندمان بیشتری در سیستم گوارش هضم و جذب می‌شود. وزن حیوان نیز افزایش می‌یابد که ممکن است در اثر تغییرات فلور میکروبی سیستم گوارشی باشد. مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان و پیشگیری و عدم رعایت مدت زمان لازم جهت دفع دارو در دامداری‌ها، سبب راه‌یابی آنتی‌بیوتیک‌ها به شیر می‌شود که می‌تواند در انسان ایجاد آلرژی کند و در درازمدت سبب بروز باکتری‌های پاتوژن مقاوم شوند که امروزه به یک نگرانی مهم تبدیل شده است (۴)؛ بنابراین کنترل کیفی و بهداشتی شیر از نظر باقیمانده آنتی‌بیوتیک‌ها ضروری به نظر می‌رسد. برای این منظور آزمون‌های مختلفی تاکنون ارائه شده‌اند که هر یک دارای معایب و محاسنی هستند. انتخاب روش آزمایش بستگی به نوع

آنتی‌بیوتیک، محدودیت‌های زمانی مورد انتظار، حساسیت روش و هزینه آن روش دارد (۵).

مواد غذایی بهداشتی مورد استفاده در جامعه باید عاری از هرگونه مواد آسیب‌رسان و تهدیدکننده سلامت افراد باشد. این مواد تهدیدکننده را می‌توان به گروه‌های مختلفی از جمله: عناصر بیولوژیک و میکروارگانیسم‌ها، عناصر شیمیایی و سموم و از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها تقسیم‌بندی نمود (۶). امروزه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور جلوگیری از ابتلای دام به عفونت‌ها امری رایج و اجتناب‌ناپذیر است، اما این مسئله باید تحت شرایط خاصی انجام شود (۷). تست وجود آنتی‌بیوتیک یکی از آزمایش‌های مهم کارخانه شیر است. وجود باقیمانده آنتی‌بیوتیکی در شیر از جهات مختلفی نامطلوب است چون باعث ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در افراد می‌شود و در فرآورده‌های تخمیری مثل ماست و پنیر از تشکیل لخته جلوگیری می‌کند. همچنین بقایای آنتی‌بیوتیک موجود در مواد غذایی می‌تواند در انسان منجر به ایجاد آلرژی، مسمومیت، جهش ژنی و حتی ایجاد سرطان گردد (۸).

برای تشخیص وجود آنتی‌بیوتیک در شیر خام روش‌های مختلفی وجود دارد روش‌های اندازه‌گیری آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است کمی و یا کیفی باشند و به طور کلی به سه دسته روش‌های ایمونولوژیکی، میکروبیولوژیکی و تجزیه‌ای تقسیم می‌شوند (۲).

یک دسته از این روش‌ها تحت عنوان روش‌های ارزیابی کیفی صرفاً جهت تشخیص مثبت یا منفی بودن باقیمانده آنتی‌بیوتیک هستند که روش تست کوپن از جمله آن‌هاست. در این روش با استفاده از ویال‌های آماده حاوی معرف آنتی‌بیوتیک و با اضافه کردن ماده غذایی مورد آزمایش به این ویال‌ها، پس از یک دوره انکوباسیون، با مشاهده تغییر رنگ از بنفش به زرد، پی به عدم وجود آنتی‌بیوتیک در ماده غذایی مورد نظر می‌بریم (۹).

شده که درصد پایینی را نشان می‌دهد. این مطالعه بر روی ۲۶۸۶ نمونه صورت گرفت (۱۶).

در مطالعه انجام گرفته توسط سالتیجرال همکارانش در مکزیک در سال ۲۰۰۴ میزان آلودگی شیر به آنتی‌بیوتیک ۷۷ درصد اعلام شد (۱۷).

## روش کار

**جمع‌آوری نمونه‌ها:** بر اساس استاندارد ملی ایران، نمونه‌برداری توسط فرد آموزش دیده و در شرایط آسپتیک، در ظروف درپنج دار استریل انجام شد. جهت این کار حداقل ۲۵۰ میلی‌لیتر از نمونه شیر خام تولیدی (آزمایه) در ظروف استریل درپنج دار، جمع‌آوری شد.

جهت حمل‌ونقل نمونه‌های موردنظر به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، بر اساس استاندارد ملی ایران آیین کار حمل‌ونقل فرآورده‌های لبنی و استاندارد ملی ایران شرایط حفاظت شیر پس از دوشش، حمل‌ونقل نمونه‌ها در شرایط زنجیره سرد انجام پذیرفت. جهت این کار نمونه‌ها در باکس مخصوص و در میان دو لایه یخ خشک انتقال یافت.

با استفاده از روش مورد اشاره تعداد ۱۵۰ نمونه شیر در مدت ۲ ماه از ابتدای آبان ماه ۱۳۹۴ تا پایان آذر همان سال از گاوداری‌های موجود در شهرستان بروجرد و حومه نمونه‌برداری به عمل آمد و در مجموع سعی شد که پراکنش مناسبی از لحاظ نمونه‌برداری در تمام مناطق شهرستان وجود داشته باشد. به همین منظور از ۱۳ منطقه روستایی و حاشیه شهر اقدام به نمونه‌برداری شد.

گاوهای تحت بررسی از نظر نژاد به ترتیب: دو رگه ۱۲۰ رأس (۸۰ درصد)، بومی ۱۹ رأس (۱۲/۶۶ درصد) و اصیل ۱۱ رأس (۷/۳۳ درصد) بودند. از لحاظ طیف سنی گاوهای مورد بررسی به ترتیب: ۲-۳ ساله ۴۵ رأس (۳۰ درصد)، ۴-۳ ساله ۶۵ رأس (۴۳/۳ درصد) و بیش از ۴ سال نیز ۴۰ رأس (۲۶/۶۶)

دسته دیگر روش‌ها شامل روش‌های کمی نظیر الیزاست که در این روش با استفاده از آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌بیوتیک تعبیه شده در چاهک‌های مربوطه و استفاده از واکنش ساندویچ الیزا در نهایت پی به وجود یا عدم وجود آنتی‌بیوتیک می‌بریم. در روش اخیر با استفاده از غلظت‌های مختلف استاندارد از آنتی‌بیوتیک مربوطه می‌توان میزان کمی آنتی‌بیوتیک مورد نظر را مشخص نمود. در این روش برای هر آنتی‌بیوتیک بایستی از کیت منحصر به همان آنتی‌بیوتیک استفاده شود (۱۰).

روش دیگر استفاده از کروماتوگرافی فاز مایع به افشار بالاست (HPLC) High Performance Liquid Chromatography) که در این روش با استفاده از ستون‌های اختصاصی اقدام به کروماتوگرافی ماده مورد نظر نموده و با استفاده از سرعت خروج آنتی‌بیوتیک مربوطه از ستون، اقدام به شناسایی و اندازه‌گیری میزان آن می‌نمایند (۱۱).

در مطالعه رسولی و همکارانش بر روی باقیمانده آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین در شیرهای پاستوریزه شهر تهران میزان آلودگی این شیرها ۷/۸ درصد اعلام شد (۱۲).

محمدحسین موثق در مطالعه‌ای که بر روی ۵۰ نمونه شیر خام در منطقه ایلخچی آذربایجان انجام داد میزان آلودگی را ۱۰ درصد (۵ نمونه) اعلام نمود. این مطالعه با استفاده از آزمون کوبین (CTM) انجام شد (۱۳).

در مطالعه دیگری که در منطقه آذربایجان انجام گرفت میزان آلودگی شیر خام ۲۱ درصد و شیر پاستوریزه نیز ۳۰ درصد اعلام شد (۱۴).

در مطالعه‌ای که توسط گینیدی و همکاران در ایتالیا صورت گرفت میزان باقیمانده آنتی‌بیوتیک بتالاکتام در شیر گاو را ۴۹ درصد گزارش نمودند (۱۵).

در مطالعه یاماکاکی و همکاران در اسپانیا میزان شیوع باقیمانده آنتی‌بیوتیک در شیر گوسفندان ۱/۷ درصد گزارش

جواب باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک منفی است و در صورتی که تغییر رنگی حاصل نشود (رنگ بنفش باقی بماند) نشان از وجود آنتی‌بیوتیک دارد (نمودار ۱)

جهت انجام کار در هر سری ارسال نمونه‌ها، از نظر وجود آنتی‌بیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفتند و جهت اطمینان از صحت انجام کار طبق دستور کیت، همواره یک ویال تحت عنوان شاهد در کنار نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

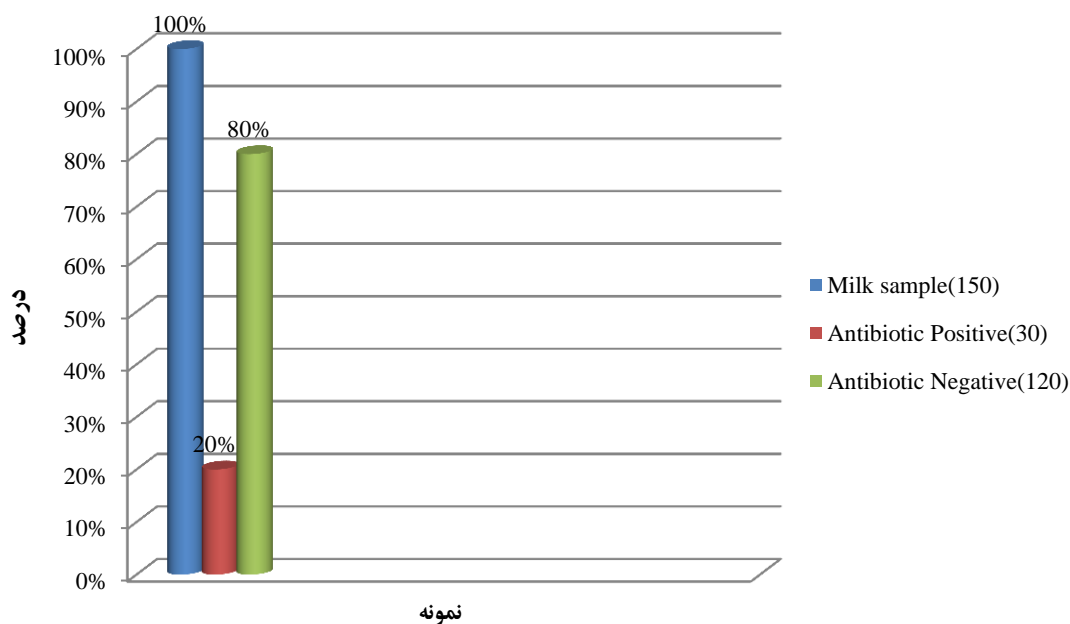
حجم نمونه‌ها با استفاده از فرمول:

$$n = \frac{Z^2 \frac{P(1-P)}{d^2}}{1 - \frac{\alpha}{2}} = \frac{(1/96)^2 (0/4)(0/6)}{(0/04)^2} = 143$$

برآورد گردید که جهت سهولت در محاسبات تعداد ۱۵۰ نمونه جمع‌آوری شد (۱۸). در نهایت نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد ارزیابی آماری قرار گرفت.

### یافته‌ها

از مجموع ۱۵۰ نمونه بررسی شده از نظر باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک، تعداد ۳۰ نمونه (۲۰ درصد) مثبت بود (نمودار ۱)



نمودار ۱: نمودار فراوانی نمونه‌های دارای باقیمانده آنتی‌بیوتیک

طیف شیوع موارد مثبت آنتی بیوتیک در میان جمعیت مورد نمونه برداری بر اساس جدول ۱-۱ به شرح زیر است:

**جدول ۱:** فراوانی آنتی بیوتیک در شیرهای به دست آمده بر اساس نژاد، سن دام و جایگاه نگهداری دام

میزان آنتی بیوتیک مثبت					
Pv	درصد	تعداد رأس دام	درصد	تعداد (رأس)	فراوانی متغیر
	۲۴/۴	۷/۰	۷/۳۳۰	۱۱/۰	اصیل
۰/۱۵	۲۶/۶	۸/۰	۱۲/۶۶	۱۹/۰	نژاد بومی
	۵۰/۰	۱۵/۰	۸۰/۰۰	۱۲۰	دورگه
	۲۴/۴	۷/۰	۳۰/۰۰	۴۵/۰	۲-۳
۰/۴۹۷	۴۰/۰	۱۲/۰	۴۳/۳۰	۶۵/۰	سن دام ۳-۴
	۳۶/۶	۱۱/۰	۲۶/۶۰	۴۰/۰	>۴
۰/۸۱۷	۵۶/۶۶	۱۷/۰	۴۳/۳۳	۶۵/۰	دامداری جایگاه نگهداری
	۴۳/۳۴	۱۳/۰	۵۶/۶۷	۸۵/۰	طویله خانگی

## بحث

آنتی بیوتیک ها علاوه بر اینکه موجب کنترل بیماری های عفونی در میان جمعیت گاوها می شوند، می توانند به رشد حیوان نیز کمک نمایند؛ اما از طرفی استفاده از آن ها در گاوهای شیرده موجب ترشح آنتی بیوتیک در شیر می شود که این مسئله موجب ایجاد مشکلاتی مانند افزایش میزان مقاومت میکروبی در میان افراد جامعه و یا ایجاد آلرژی در میان جمعیت مصرف کننده چنین محصولاتی می شود.

در مطالعه اخیر با توجه به نتایج به دست آمده ارتباط معناداری میان مصرف آنتی بیوتیک با سن ( $PV=0/497$ )، نژاد ( $PV=0/15$ ) و همچنین جایگاه نگهداری دام یافت نشد ( $PV=0/817$ ).

نتایج حاصل از این مطالعه در مقایسه با مطالعه مشابه که توسط محمدحسین موثق در منطقه ایلخچی آذربایجان انجام شده میزان بالاتری از باقیمانده آنتی بیوتیک را نشان می دهد.

در مطالعه موثق با بررسی ۵۰ نمونه شیر خام گاو با استفاده از آزمون کوپن (CMT) Colour Milk Test فقط ۵ نمونه (۱۰ درصد) حاوی باقیمانده آنتی بیوتیک بود (۱۳) و این در حالی است که مطالعه اخیر بر روی ۱۵۰ نمونه شیر خام حکایت از شیوع ۲۰ درصدی (۳۰ نمونه مثبت) موارد آنتی بیوتیک مثبت دارد که افزایش دو برابری را نشان می دهد. هم چنین در مطالعه رسولی همکارانش بر روی باقیمانده آنتی بیوتیک تتراسایکلین در شیرهای پاستوریزه شهر تهران میزان آلودگی این شیرها ۷/۸ درصد اعلام شد که نسبت به مطالعه اخیر میزان جداسازی کمتر بود.

در مطالعه دیگری که توسط منافی و همکاران در منطقه آذربایجان انجام گرفت میزان آلودگی شیر خام ۲۱ درصد و شیر پاستوریزه نیز ۳۰ درصد اعلام شد (۱۴). که با نتایج مطالعه اخیر هم خوانی دارد.

## نتیجه‌گیری

از آنجایی که مقاومت‌های ایجاد شده در میان جمعیت‌های میکروبی به دلیل مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها (از جمله در صنایع غذایی) است، به نظر می‌رسد برای حل این مشکل باید در این زمینه به دنبال چاره‌جویی بود. از این رو بررسی دقیق‌تر باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک در میان مواد غذایی مختلف از جمله شیرهای تولید شده، می‌تواند در جلوگیری از افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان باکتری‌ها مؤثر باشد.

## تقدیر و تشکر

این مقاله نتیجه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۲۹۶۹۹ می‌باشد. کد اخلاق ثبت شده در معاونت پژوهش دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران برای این طرح IR.TUMS.REC.1394.1623 می‌باشد. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که از نظر مالی حامی این طرح تحقیقاتی بوده‌اند، کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

## تعارض منافع

هیچ تعارض منافی توسط نویسندگان بیان نشده است.

مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعه مشابهی که توسط گینیدی در ایتالیا انجام گرفته و در آن میزان شیوع آنتی‌بیوتیک را ۴۰ درصد مثبت اعلام نموده (۱۵)، به مراتب نتایج پایین‌تری را نشان می‌دهد.

در مطالعه یاماکی و همکاران در اسپانیا میزان شیوع باقیمانده آنتی‌بیوتیک در شیر گوسفندان ۱/۷ درصد گزارش شد (۱۶) که نسبت به مطالعه فعلی درصد پایین‌تری را نشان می‌دهد، این مطالعه بر روی ۲۶۸۶ نمونه صورت گرفت.

همچنین در مطالعه سالتیجرال همکارانش در مکزیک در سال ۲۰۰۴ میزان آلودگی شیر به آنتی‌بیوتیک ۷۷ درصد اعلام شد (۱۷). که در مقایسه با مطالعه اخیر نتایج به مراتب بالاتری را نشان می‌دهد.

عدم همکاری کشاورزان و دامداران محلی در رابطه با ارائه اطلاعات مربوط به تزریق آنتی‌بیوتیک به دام از جمله مشکلات مربوط به این پروژه بوده و همچنین عدم آگاهی آنان از اهمیت وجود آنتی‌بیوتیک در شیر استحصالی از جمله مشکلات مهم در ارتباط با وجود آنتی‌بیوتیک در شیرهای موجود در بازار می‌باشد.

به همین خاطر پیشنهاد می‌شود که ضمن اطلاع‌رسانی مناسب و آموزش کافی به دامداران و کشاورزان، آنان را از اهمیت ایجاد فاصله زمانی مناسب مابین زمان استفاده از آنتی‌بیوتیک و زمان شیردوشی آگاه سازند. همچنین استفاده از روش‌های درمانی مناسب جایگزین نظیر فاژتراپی، می‌بایست مورد نظر محققان علوم میکروبیولوژی و کشاورزی و دام‌پروری قرار گیرد.

## References

1. Kloth K, Rye-Johnsen M, Didier A, Dietrich R, Märklbauer E, Niessner R, et al. A regenerable immuno-chip for the rapid determination of 13 different antibiotics in raw milk. *Analyst*. 2009;134(7):1433-9.
2. Holstege D, Puschner B, Whitehead G, Galey FD. Screening and mass spectral confirmation of  $\beta$ -lactam antibiotic residues in milk using LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(2):406-11.
3. Molina A, Molina MP, Althaus RL, Gallego L. Residue persistence in sheep milk following antibiotic therapy. *The Veterinary Journal*. 2003;165(1):84-9.
4. Mitsuhashi S. Drug resistance in bacteria: history, genetics and biochemistry. *Journal of International Medical Research*. 1993;21(1):1-14.

5. Popelka P, Nagy J, Popelka P, Sokol J, Hajurka J, Cabadaj R, et al. Comparison of various methods for penicillin residue detection in cow milk after intramammary and parenteral treatment. *Bulletin-Veterinary Institute In Pulawy*. 2003;47(1):203-10.
6. Phillips I, Casewell M, Cox T, De Groot B, Friis C, Jones R, et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;53(1):28-52.
7. Schwarz S, Kehrenberg C, Walsh T. Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2001;17(6):431-7.
8. Dewdney J, Maes L, Raynaud J, Blanc F, Scheid J, Jackson T, et al. Risk assessment of antibiotic residues of  $\beta$ -lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential. *Food and Chemical Toxicology*. 1991;29(7):477-83.
9. Ghanavi Z. Determination of Penicillin G residue in raw and pasteurized Milk from Tehran dairy industries dairy plant. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*. 2003;22:13-8.
10. Huet AC, Charlier C, Tittlemier SA, Singh G, Benrejeb S, Delahaut P. Simultaneous determination of (fluoro) quinolone antibiotics in kidney, marine products, eggs, and muscle by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;54(8):2822-7.
11. Charoenraks T, Chuanuwatanakul S, Honda K, Yamaguchi Y, Chailapakul O. Analysis of tetracycline antibiotics using HPLC with pulsed amperometric detection. *Analytical Sciences*. 2005;21(3):241-5.
12. Rasooli I, Abdolmaleki Z, Bokaii S, Kamkar A, Shams G. A Cross-Sectional Study on Oxytetracycline and Tetracycline Residues in Pasteurized Milk Supplied in Tehran by an HPLC Method. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*. 2010;4(1):1-3.
13. Movassagh MH. Identification of antibiotic residues in raw milk of cattle in the Ilkhchi area (southwest of Tabriz). *Journal of Food Technology and Nutrition*. 2012;9(3):89-94.
14. 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.
15. Adesiyun AA, Webb LA, Balbirsingh V. Prevalence of antimicrobial residues in preprocessed and processed cow's milk in Trinidad. *Journal of Food Safty*. 2002;16(4):301-10.
16. Yamaki M, Berruga M, Althaus R, Molina M, Molina A. Occurrence of antibiotic residues in milk from Manchega ewe dairy farms. *Journal of Dairy Science*. 2004;87(10):3132-7.
17. Saltijeral J, Cordova A, Velazquez V. Antibiotic residues in raw milk in Mexico city. *International Society for Animal Hygiene-Saint-Malo*. 2004:393.
18. Sani AM, Nikpooyan H, Moshiri R. Aflatoxin M1 contamination and antibiotic residue in milk in Khorasan province, Iran. *Food and Chemical Toxicology*. 2010;48(8):2130-2.