

## بررسی بقایای آنتی بیوتیک در شیرهای پاستوریزه و محلی شهرستان های مراغه و بناب به روش چهار پلیتی (FPT)



زهرا زرانگوش<sup>۱</sup>، سامان مهدوی<sup>۲\*</sup>

(۱) گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مراغه، مراغه، ایران

(۲) باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مراغه، مراغه، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۰

### چکیده

**مقدمه:** علی رغم اثرات مفید آنتی بیوتیک ها در درمان بیماری های عفونی، باقی مانده آن ها در مواد غذایی مانند گوشت و شیر و انتقال آن به بدن انسان اثرات زیان بخشی دارد. هدف از این پژوهش پایش باقی مانده آنتی بیوتیک ها در شیرهای خام و پاستوریزه شهرستان های مراغه و بناب به روش چهار پلیتی (FPT) بود.

**مواد و روش ها:** برای این منظور ۷ واحد گاوداری صنعتی مراغه، ۷ واحد گاوداری صنعتی بناب، ۴ واحد گاوداری سنتی مراغه، ۵ واحد گاوداری سنتی بناب، ۱ واحد کارخانه فرآوری شیر مراغه و ۱ واحد کارخانه فرآوری شیر بناب به صورت تصادفی انتخاب شد. ۲۵ نمونه شیر در ۴ تکرار در زمان های مختلف اخذ گردید و از لحاظ باقی مانده آنتی بیوتیک به روش چهار پلیتی (FPT) مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته های پژوهش:** ۷ مورد (۲۴/۹۴ درصد) نمونه های شیرخام گاوداری های صنعتی مراغه، ۱۵ مورد (۵۳/۴۷ درصد) نمونه های شیرخام گاوداری های صنعتی بناب، ۶ مورد (۳۷/۵ درصد) نمونه های شیرخام گاوداری های سنتی مراغه، ۴ مورد (۲۰ درصد) نمونه های شیر گاوداری های سنتی بناب و ۱ مورد (۲۵ درصد) نمونه شیر پاستوریزه مراغه آلوده به بقایای آنتی بیوتیکی تشخیص داده شدند و نمونه های شیر پاستوریزه بناب منفی تشخیص داده شد. با بررسی نتایج مشخص گردید بیشترین بقایای آنتی بیوتیکی مربوط به گروه های پنی سیلین و ماکرولیدها ( $P > 0.05$ ) و کمترین بقایای آنتی بیوتیکی مربوط به گروه انروفلوکسازین بوده است.

**بحث و نتیجه گیری:** با توجه به سرانه مصرف شیر در کشور، این میزان از آلودگی به آنتی بیوتیک ها، جمعیت قابل توجهی را تحت تاثیر قرار می دهد که در بین آن ها کودکان، سالمندان، بانوان باردار و بیماران، بیش از سایرین در معرض خطر می باشند. این پژوهش لزوم توجه بیش از پیش سازمان های قانون گذار و ناظر را برای کنترل و به حداقل رساندن این آلودگی ها گوشزد می کند.

**واژه های کلیدی:** باقی مانده آنتی بیوتیک، شیرخام، شیر پاستوریزه، تست چهارپلیتی

\*نویسنده مسئول: باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مراغه، مراغه، ایران

Email: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir

مقدمه

از نظر فارماکولوژی هر ماده شیمیایی تولید شده توسط موجودات زنده ذره بینی (باکتری، قارچ و ...) و یا ساخته شده به طور مصنوعی که موجب وقفه پدیده های حیاتی موجود زنده دیگر شود آنتی بیوتیک نام دارد. این ترکیبات ممکن است سبب مرگ باکتری های در حال رشد گردند که گندزد (Bacteriocide) و یا از رشد آن ها جلوگیری نمایند که در این صورت پادزیست (Bacteriostatic) خوانده می شوند (۱).

به علت کارایی بالایی که آنتی بیوتیک ها در درمان و پیشگیری بیماری ها دارند، متأسفانه انواع مختلف آنتی بیوتیک ها بدون در نظر گرفتن عوارض جانبی دارو و دوره دفع دارویی، علاوه بر دام پزشکان، توسط تکنسین های دام پزشکی و حتی خود دامداران مورد استفاده قرار می گیرند. علی رغم اثرات مفید این داروها در درمان بیماری های دام و افزایش وزن بدن دام ها، اثرات سوء آن ها نیز ممکن است باعث ایجاد عوارض زیان باری چه در دام ها و چه در انسان شود (۲). وجود بقایای آنتی بیوتیکی در باکتری ها، واکنش های آلرژیک در افراد حساس، خطرات مسمومیت مستقیم با این داروها، خواص کارسینوژیک برخی از آن ها و هم چنین به هم زدن میکرو فلور طبیعی بدن می شود (۳، ۴). از آن جایی که مصرف آنتی بیوتیک ها در کشورهای جهان سوم و به خصوص ایران بی رویه می باشد و به دوره دفع آنتی بیوتیک از بدن دام ها توجهی نمی شود، این مسئله حادث می ب اشد. لذا کنترل کیفی

فرآورده های غذایی از نظر عاری بودن از آنتی بیوتیک ها امری لازم و ضروری می باشد. در بین انواع روش های مختلف تشخیص بقایای آنتی بیوتیکی، روش های میکروبیولوژیکی از متداول ترین و کاربردی ترین روش های تعیین بقایای آنتی بیوتیکی در مواد غذایی هستند؛ زیرا این روش ها در مقایسه با دیگر روش ها از نظر هزینه و زمان و حساسیت تشخیصی به صرفه تر می باشند (۵، ۶). روش (Four Plate Test) FPT که در این مقاله از آن استفاده شده است، در سال های اخیر توسط برخی محققین استفاده شده و حساسیت آن جهت تایید بقایای آنتی بیوتیکی مورد تایید قرار گرفته و امروزه به عنوان روش استاندارد تایید بقایای آنتی بیوتیکی در اتحادیه اروپا کاربرد دارد (۴). روش چهار پلیتی یکی از روش های میکروبیولوژیکی جهت تایید حضور بقایای آنتی بیوتیکی در مواد غذایی می باشد که در چهار محیط کشت با pH و باکتری های متفاوت انجام می گیرد. تست چهار پلیتی ذاتاً توانایی شناسایی پنج گروه مختلف از آنتی بیوتیک ها شامل بتالاکتام ها، تتراسیکلین ها، سولفونامیدها، آمینوگلیکوزیدها و ماکرولیدها را دارد (۷). این توانایی تشخیص بر اساس نوع محیط کشت و باکتری استفاده شده در آن می باشد (جدول شماره ۱). در این راستا هدف از این تحقیق شناسایی شیر آلوده به بقایای آنتی بیوتیکی، بررسی وضعیت آلودگی شیر به آنتی بیوتیک عرضه شده به بازار و در نهایت مشخص نمودن رایج ترین گروه آنتی بیوتیکی باقی مانده در مواد غذایی می باشد.

جدول شماره ۱. محیط کشت، باکتری ها و آنتی بیوتیک های احتمالی قابل شناسایی در تست چهار پلیت استفاده شده در اروپا (۱۷).

PH محیط کشت	باکتری تست	آنتی بیوتیک های دخیل
۶	باسیلوس سوبتلیس	گروه پنی سیلین ها
۷/۲	باسیلوس سوبتلیس	گروه تتراسایکلین ها
۸	باسیلوس سوبتلیس	داروهای سولفونامیدی
۸	میکروکوکوس لوتوس	گروه آمینوگلیکوزیدها
۸	میکروکوکوس لوتوس	گروه پنی سیلین ها
۸	میکروکوکوس لوتوس	گروه ماکرولیدها
۶	اشریشیاکلی	گروه انروفلوکسازین ها

## مواد و روش ها

نمونه برداری جهت بررسی بقایای آنتی بیوتیکی به صورت تصادفی در تابستان ۱۳۹۳ از شیرهای گاوداری های سنتی، صنعتی و شیرهای پاستوریزه در شهرستان های مراغه و بناب انجام شد. برای این منظور مقدار ۱۰۰ سی سی شیر از ۷ واحد گاوداری صنعتی مراغه، ۷ واحد گاوداری صنعتی بناب، ۴ واحد گاوداری سنتی مراغه، ۵ واحد گاوداری سنتی بناب، ۱ واحد کارخانه فرآوری شیر مراغه و ۱ واحد کارخانه فرآوری شیر بناب که به صورت تصادفی انتخاب شدند، در ۴ تکرار در زمان های مختلف اخذ گردید و از لحاظ باقی مانده آنتی بیوتیک به روش چهار پلیتی (FPT) مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه ها پس از ثبت مشخصات در لوله آزمایش های پلی اتیلنی درپوش دار استریل قرار داده شده و پس از ثبت کد بر روی آن ها، در مجاورت یخ بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. باکتری های مورد استفاده در روش چهار پلیت باسیلوس سوبتلیس PTCC 1365 و میکروکوکوس لوتئوس PTCC 1169 و اشیریشیاکلی PTCC 1270 بود. این باکتری ها جهت استفاده در محیط نوترینت آگار مورد کشت قرار گرفتند. پس از تکثیر باکتری ها، سوسپانسیونی از آن ها در محیط نوترینت برات (معادل غلظت ۰/۵ آزمایش مک فارلند) تهیه گردید (۸). محیط کشت مورد استفاده در انجام آزمایش مولر هینتون آگار می باشد. جهت تهیه محیط های کشت طبق دستور العمل کارخانه سازنده، مقدار ۳۸ گرم از پودر خشک محیط با ۱ لیتر آب مقطر مخلوط سپس مخلوط به دست آمده به وسیله هات پلیت مجهز به همزن مغناطیسی تا رسیدن به دمای جوش حرارت داده و سپس به مدت یک دقیقه جوشانده شده با استفاده از pH متر دیجیتالی به وسیله اسید استیک و هیدروکسید سدیم در pH ۶، ۷/۲ و ۸ تنظیم گردید. ترکیب به دست آمده در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو استریل شده و پس از کاهش دمای آن تا حدود ۵۰ درجه سانتی گراد، مقدار ۲۵ سی سی از محیط های کشت در هر یک از پلیت های شیشه ای ریخته شد. پس از آماده سازی پلیت ها، باکتری باسیلوس سوبتلیس در سه pH شامل ۶، ۷/۲ و ۸ و باکتری میکروکوکوس

لوتئوس در pH=۸ و باکتری اشیریشیاکلی در pH=۶ با استفاده از سواب پنبه ای و رعایت شرایط استریل در سطح پلیت ها کشت داده شدند (۹). نمونه های تهیه شده به تفکیک مکان نمونه برداری جهت بررسی حضور بقایای آنتی بیوتیکی به روش چهار پلیت، با استفاده از دیسک های بلاگ در پلیت های کشت داده شده باکتری ها قرار داده شدند. بعد از به هم زدن نمونه به مقدار ۲۵ میکرولیتر شیر برداشته و به آرامی توسط سمپلر روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار ریخته و صبر کرده تا جذب شود. سپس به مدت ۱۸ الی ۲۴ ساعت داخل انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند و بعد از رشد باکتری مورد نظر و در صورت ایجاد هاله عدم رشد بر اثر وجود بقایای آنتی بیوتیک قطر هاله را ثبت و مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفتند.

## یافته های پژوهش

با توجه به مطالعات صورت گرفته، هاله عدم رشد در تست چهار پلیتی فقط زمانی مشاهده می گردد که بقایای آنتی بیوتیکی بیش از حد مجاز باشد زیرا حساسیت این تست طوری است که قادر به شناسایی بقایای آنتی بیوتیکی کمتر و یا در حد مقدار مجاز نمی باشد (۴،۱۰). لذا ایجاد هاله در اطراف نمونه، در هر یک از pH ها به عنوان نتیجه مثبت، یعنی آلودگی نمونه به بقایای آنتی بیوتیکی در نظر گرفته شد. تعداد و درصد موارد مثبت به تفکیک محل نمونه برداری و pH در جدول شماره ۲ خلاصه شده است. از مجموع ۲۵ نمونه شیر گاوداری های صنعتی، سنتی و شیرهای پاستوریزه شهرستان های مراغه و بناب (در چهار تکرار) ۷ مورد (۲۵ درصد) نمونه های شیر خام گاوداری های صنعتی مراغه، ۱۵ مورد (۵۳/۵ درصد) نمونه های شیر خام گاوداری های صنعتی بناب، ۶ مورد (۳۷/۵ درصد) نمونه های شیر خام گاوداری های سنتی مراغه، ۴ مورد (۲۰ درصد) نمونه های شیر گاوداری های سنتی بناب و ۱ مورد (۲۵ درصد) نمونه شیر پاستوریزه مراغه آلوده به بقایای آنتی بیوتیکی تشخیص داده شدند و نمونه های شیر پاستوریزه بناب منفی تشخیص داده شد.



بین گروه های مختلف آنتی بیوتیکی را دارند داشته باشند(۵). با توجه به این که تمام داروهای دامی و یا متابولیت های حاصل از آن ها فعالیت ضدباکتریایی نشان نمی دهند، روش ایمونوشیمیایی نیز جهت اهداف غربالگری مورد استفاده قرار می گیرند. همانند روش میکروبی، تست های ایمونوشیمیایی اگر چه بسیار حساس هستند، ولی نمی توانند از نظر نظارتی به عنوان یک تست قطعی در نظر گرفته شوند؛ زیرا ایجاد نتایج مثبت کاذب در آن ها بالا است. به این علت این تست ها به عنوان مکمل و در قالب یک سیستم آنالیزی مرکب از روش های مختلف به کار می روند. این تست ها می توانند جهت تعیین نوع آنتی بیوتیک در گروه تشخیص داده شده توسط تست های میکروبی به کار می روند(۵). طبق مطالعات انجام یافته مشاهده هاله مهاری در اطراف نمونه ها در روش چهار پلیتی تنها زمانی امکان پذیر است که میزان بقایای آنتی بیوتیک بیش از حد مجاز باشد. زیرا حساسیت این تست طوری است که بقایای کمتر و یا در حد مجاز را نمی تواند تشخیص بدهد(۴،۱۱). با توجه به نتایج به دست آمده در اجرای این تحقیق، مشخص گردید که استفاده از باکتری میکروکوکوس لوتوس در  $pH=8$  بیشترین نتایج را به همراه داشته است. بنا بر این تغییر  $pH$  محیط کشت و نوع باکتری بیشترین تاثیر را بر روی آشکارسازی اثرات مهاری آنتی بیوتیک دارا می باشد(۲). طبق نتایج به دست آمده در این تحقیق، ۳۳ درصد نمونه های شیر مورد آزمایش از نظر بقایای آنتی بیوتیکی مثبت بودند که با نتایج تحقیق سایر محققین مطابقت دارد. در مطالعه ای که توسط حبیبی(۱۲) جهت بررسی بقایای آنتی بیوتیک در شیرهای خام شهرستان سنندج انجام گرفت از مراکز جمع آوری شیر، گاوداری نیمه صنعتی و گاوداری های صنعتی نمونه برداری انجام شد که مجموعاً از ۱۶۷ نمونه، ۶۴ نمونه (۳۸/۳ درصد) از لحاظ بقایای آنتی بیوتیک مثبت گزارش شد که بقایای آنتی بیوتیک در شیرهای دامداری های صنعتی بیشتر از دو گروه و در مورد گاوداری های نیمه صنعتی بیشتر از مراکز جمع آوری شیر بود. عمار سید احمد و همکاران(۱۳) در کشور سودان گزارش کردند که از ۷۲ نمونه شیر خام دامداری

ها و مغازه ها، ۲۸ نمونه(۳۸/۸ درصد) آن ها از لحاظ حضور بقایای آنتی بیوتیکی مثبت بوده است. خاصگی و همکاران(۱۴) در کشور پاکستان گزارش کردند که از ۱۳۷ نمونه شیر خام مورد آزمایش جهت حضور بقایای آنتی بیوتیک گروه بتالاکتام، ۳۶/۵ درصد آن ها مثبت بود. در مطالعه ای دیگر که توسط رسولی و همکاران(۱۵) بر روی باقی مانده داروی تتراسایکلین و اکسی تتراسایکلین در شیر پاستوریزه در شهر تهران انجام گرفت که در(۷/۸ درصد) نمونه ها از لحاظ باقی مانده داروی تتراسایکلین و اکسی تتراسایکلین مثبت گزارش شده است. موق(۱۶) در شهرستان ایلخچی گزارش کرد که از مجموع ۵۰ نمونه شیر جمع آوری شده از مراکز جمع آوری شیر در ۵ نمونه(۱۰ درصد) آن ها باقی مانده آنتی بیوتیکی وجود دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که بیشترین بقایای آنتی بیوتیکی در نمونه های شیر مربوط به گروه های پنی سیلین و ماکرولیدها می باشد که با نتایج تحقیق غنوی(۱۸) که آنتی بیوتیک های بتالاکتام را بیشترین میزان بقایای آنتی بیوتیکی در شیر خام و پاستوریزه گزارش کردند هم خوانی دارد. این گروه از آنتی بیوتیک ها بیشترین استفاده را در موارد ورم پستان و تجویز داخل پستانی دارو، در دام پزشکی داشته و از نظر سلامت و بهداشت انسان اهمیت فراوانی دارند. با توجه به نتایج به دست آمده میزان بقایای آنتی بیوتیک در شیر گاوداری های صنعتی نسبت به گاوداری های سنتی بیشتر بوده که علت آن احتمالاً استفاده بیش از حد آنتی بیوتیک ها و عدم رعایت فاصله زمانی بین تجویز آنتی بیوتیک و عرضه شیر به بازار در گاوداری های صنعتی می باشد. هم چنین تراکم زیاد دام در گاوداری ها، وضعیت بهداشتی نامناسب و مدیریت ضعیف گاوداری در مصرف بالای آنتی بیوتیک ها نقش به سزایی دارند. در ارتباط با شیر، باقی مانده آنتی بیوتیک ها بیش از همه متعاقب راه تزریق داخل پستانی(به خاطر سهولت کار و موثر بودن آن در درمان ورم پستان) در شیر یافت می شود. به همین جهت پس از تجویز و کاربرد آنتی بیوتیک در داخل پستان از دوشش حیوان باید خودداری شود و ترجیحاً در اوقات عصر تجویز دارو صورت گیرد.

دور از انتظار نخواهد بود. پیشنهاد می شود برنامه کنترل مستمری به جای کنترل های موقتی و موردی جهت تشخیص بازدارنده های رشد میکروبی و آنتی بیوتیک ها در کلیه مراکز جمع آوری و در دامداری ها و کارخانجات لبنی به اجرا گذاشته شود.

هم چنین حضور بقایای آنتی بیوتیکی در شیر پاستوریزه و عدم تاثیر حرارت پاستوریزاسیون بر بقایای آنتی بیوتیکی در شیر مشهود است. علاوه بر فرآورده های لبنی این دام ها، در صورت ذبح دام ها حضور بقایای آنتی بیوتیکی در گوشت و احشاء خوراکی آن ها

### References

1. Karim G, Kiai SM, Rokni N, Razavirohani SM. [Antibiotic residues in milk contamination during the last forty years in Iran.] J Food Hygiene 1390; 1:23-9 (Persian).
2. Torbati MA, Shamshiri M, Javadi M. [Evaluation of antibiotic residues in edible tissues of cattle slaughtered Tabriz]. J Food Hygiene 1390; 1:29-30 (Persian).
3. Berends BR, Van den Bogaard AE, van Knapen F, Snijders JM. Human health hazards associated with the administration of antimicrobials to slaughter animals. Vet Quart J 2001; 23:2-10.
4. Hossein Khan Nazer A, Kahba H. [Antibiotics residues and sulfonamides in poultry by FPT method and effect of heating on them]. Pazhoohesh Sazandegi J 1999; 43:62-5. (Persian)
5. Botsoglou NA, Fletouris DJ. Drug residue in foods. New York. Marcel Dekker 2001; P.456-572.
6. Afshar K. Control instruction for veterinary drugs usage. Inst Stand Indust Res Iran J 2000; 5592:1-12.
7. Koenendierick K, Okerman L, Dezutter L, Degroodt JM, Van hoof J, Srebrnik S. A one plate microbiological screening test for antibiotic residue testing in kidney tissue and meat an alternative to the EEC four plate method. Food Add Cont 1995; 12:77-82.
8. Anonymous M. Practical microbiology guideline. Merks trading publishing 1992; P.1-15.
9. Botsoglou NA, Fletouris DJ. Drug residue in foods. New York Marcel Dekker Publishing 2001; p.456-572.
10. Hosseinkhan A, Shakarforoush S, Ghanei K. [FPT method application for determination of antibiotics residues in Sheep carcasses]. Pazhoohesh Sazandegi J 1995; 38: 180-184. (Persian)
11. Myllyniemi AL, Nuotio L, Lindfors E, Rannikko R, Niemi A, Backman C. A microbiological six-plate method for identification of certain antibiotic groups in incurred kidney and muscle samples. Analyst 2001; 126: 641-6.
12. Habibi N. [Antibiotic residues in raw Milks Kurdistan]. Islam Azad Uni Vet J 2010; 11:57-8. (Persian)
13. Amarsaid MM, Ibtisam E, Osmanowni MAO, Mohmedkheir A. Assessment of microbial load and antibiotic residues in raw Milk supply in Khartoum state Sudan. Res J Dairy Sci 2008; 3:57-62.
14. Khaskheli M, Malik S, Arain MA, Soomro AH, Arain HH. Detection of  $\beta$ -lactam antibiotic residues in market Milk. Pakistan J Nut 2008; 5:682-5.
15. Rassouli A, Abdolmaleki Z, Bokaei S, Kamkar A, Shams G. A cross sectional study on Oxytetracycline and Tetracycline residues in pasteurized milk supplied in Tehran by an HPLC method. Int J Vet Res 2010; 4:1-3.
16. Movasagh MH. Detection of antibiotic residues in raw cows Milk in Ilkhchi South West Tabriz in the spring of 2009. J Nut 1389; 9: 89-94.
17. Myllyniemi AL. Development of microbiological methods for the detection and identification of antimicrobial residues in meat. Acad Dis Vet Med Uni Helsinki Publication 2004; p.11-38.
18. Ghanavi Z. [Determination of Penicillin G residue in raw and pasteurized Milk from Tehran dairy industries dairy plant]. Qazvin Uni Med Sci J 2003; 22:13-8. (Persian)

## Determination of Antibiotic Residues in Pasteurized and Raw Milk in Maragheh and Bonab Counties by Four Plate test (FPT) Method

Zarangush Z<sup>1</sup>, Mahdavi S<sup>2\*</sup>

(Received: December 27, 2014

Accepted: February 18, 2015)

### Abstract

**Introduction:** Despite the beneficial effects of antibiotics in the treatment of infectious diseases, their residuals in food such as meat, milk and its transmission to human body have harmful effects. The purpose of this study was to monitor the residual antibiotics in raw and pasteurized milk of Maragheh and Bonab townships by four-plate test method (FPT).

**Materials & methods:** For this purpose, 7 Dairy industries in Maragheh, 7 Dairy industries in Bonab, 4 traditional dairies in Maragheh, 5 traditional dairies in Bonab, a unit of milk processing plant in Maragheh, and a unit of milk processing plant in Bonab were chosen randomly. 25 milk samples were collected at 4 repeated different times of the remaining four antibiotics and were studied by plate method (FPT).

**Findings:** 7 (94/24%) samples of raw milk dairy industries of Maragheh, 15 cases (47/53%) samples of raw milk dairies

industry of Bonab, 6(5/37%) samples of raw milk dairies of traditional type in Maragheh 4 (20%) samples, and Bonabtraditionaldairymilk1 (25%) samples of pasteurized milk contaminated Maragheh antibiotic residues were detected and Bonab pasteurized milk samples were found as negative. The results showed that the maximum residual antibiotic in the penicillin and macrolid groups ( $p>0.05$ ) and the least residual antibiotic was confirmed in enrofloxazin group.

**Discussion & conclusions:** According to Iranian milk consumption per capita, these rates of contamination affect considerable part of population especially vulnerable groups like children, pregnant women, the elderly, and patients. This research shows the necessity of legislative and food inspecting organizations to control and minimize these contaminations.

**Keywords:** Antibiotic residue, Raw milk, Pasteurized milk, Four plate test

1. Dept of Food Industries, Islamic Azad University, Maragheh Branch, Maragheh, Iran

2. Young Research and Elite Club, Islamic Azad University, Maragheh Branch, Maragheh, Iran

\* Correspondin author Email: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir