فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال اول، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۱، صفحه ۷۱- ۷۶
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۷/۲۴ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۰۹

ردیابی مولکولی *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* در شیرهای ورم پستانی گاوها در استان اصفهان

حسن ممتاز: دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران، hamomtaz@yahoo.com *
محمد سید فروتن: دکتری دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران، msforootan_vet85@yahoo.com
تقی تکتاز: استادیار بیماری‌های تولید مثل دام، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران، taghi_taktaz@yahoo.com
مجتبی صادقی: دکتری دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران، sadeghi_vet@yahoo.com

چکیده

مقدمه: ورم پستان یکی از شایع‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌های گله‌های گاو شیری است. ورم پستان یک بیماری التهابی غده پستان است که به‌وسیله عوامل عفونی زیادی ایجاد می‌شود. *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* به فراوانی از نمونه‌های شیر ورم پستانی گاو جدا شده اند.

مواد و روش‌ها: درکل ۱۲۳ نمونه شیر از گاوان مبتلا به ورم پستان بالینی جمع آوری و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد. شیر این مطالعه، به منظور بررسی میزان شیوع *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* در شیر گاوان مبتلا به ورم پستان بالینی در گاوداری‌های صنعتی اطراف اصفهان، انجام شد های ورم پستانی به‌وسیله آزمایش ورم پستان کالیفرنیایی تأیید و همه نمونه‌ها با استفاده از آزمایش‌های میکروبی و بیوشیمیایی آزمایش شدند. در نهایت همه ۱۲۳ نمونه با واکنش زنجیره ای پلیمراز دوباره ارزیابی شدند.

نتایج: نتایج روش کشت نشان داد که باکتری‌های *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* به ترتیب در ۱۳ و ۷/۳۱ درصد از نمونه‌های شیر، تشخیص داده شدند. واکنش زنجیره ای پلیمراز نشان داد که باکتری‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استرپتوکوکوس یوبریس به ترتیب در ۱۹/۵۱ و۱۰/۵۶ درصد از نمونه‌های شیر تشخیص داده شدند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان داد، واکنش زنجیره ای پلیمراز برای تشخیص دو باکتری *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* از دقت بالایی برخوردار است. ما استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز را برای کنترل کیفیت میکروبی نمونه‌های شیر، پیشنهاد می کنیم.

واژه‌های کلیدی: *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس یوبریس*، شیر ورم پستانی، اصفهان

---

* نویسنده مسؤول مکاتبات

مقدمه

شیر و فراورده‌های آن، به عنوان یک غذای کامل به ویژه برای نوزادان و سالمندان محسوب می‌شوند. ارزش غذایی بالای آن از نظر پروتئین، مواد معدنی، ویتامین‌ها و چربی، انکار ناپذیر است. تولید شیر یک فرایند پیچیده است که با فعالیت کامل غدد پستانی انجام می‌شود. به لحاظ شکل و محل آناتومیکی بافت پستان، امکان آلوده شدن آن نه تنها در زمان تماس پستان با بستر آلوده، بلکه در زمان شیردوشی نامناسب، وجود دارد. سندرم ورم پستان یکی از بیماری‌های مهم در پستانداران، به ویژه به علت استرس شیردوشی که به گاوان وارد می‌شود، در گاو شیری می‌باشد.

ورم پستان به التهاب بافت پارانشیم غدد پستانی گفته می‌شود که باعث تغییرات مرضی در غدد پستانی و تغییرات فیزیکی و شیمیایی در شیر می‌شود. ضررهای اقتصادی ناشی از ورم پستان تنها محدود به هزینه‌های درمانی و دامپزشکی، کاهش تولید شیر و بیرون ریختن شیر به علت آنتی بیوتیک درمانی نمی‌شود، حذف دام مبتلا می‌تواند ضرر اقتصادی بزرگ‌تری محسوب شود (۱). تغییر رنگ شیر، لخته در شیر، افزایش سلول‌های بدنی و گلبول‌های سفید در شیر، تغییرات بافت پارانشیم غدد پستانی که با ملامسه قابل تشخیص است، از تغییرات پاتولوژیک در ورم پستان هستند. از بین عوامل عفونی فراوانی که باعث ایجاد ورم پستان می‌شوند، گونه‌های *استرپتوکوک* یکی از مهم‌ترین عوامل میکروبی این بیماری به حساب می‌آیند (۲ و ۳). مخزن اصلی *استرپتوکوک‌ها* و به ویژه *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، انسان و خوک می‌باشند، به همین علت شیوع این نوع از ورم پستان، نشان دهنده عدم رعایت موازین بهداشتی در سالن شیردوشی است. علاوه بر این، عفونت‌های حاصل از *استرپتوکوکوس یوبریس* متداول‌ترین ورم پستان دوره خشکی محسوب می‌شود، که ابتدا و انتهای دوره خشکی بروز می‌نماید (۴). *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* دو باکتری گرم مثبت و بیماری‌زای پستان گاوهای شیری هستند. علاوه بر این، *استرپتوکوک‌ها* یکی از عوامل شایع ایجاد عفونت‌های عمومی و منتژیت در نوزادان و همچنین بیماری‌های مهاجم در زنان باردار بوده و می‌توانند در بزرگسالان با شرایط زمینه‌ای مانند نقص سیستم ایمنی نیز بیماری ایجاد کنند (۵). اهمیت این دو باکتری آنقدر بالا بوده که تاکنون بیشتر داروهای مبارزه با ورم پستان برای آن‌ها ساخته شده اند.

در بیشتر موارد درمان صحیح و به موقع ورم پستان در گاوهای شیری، مرهون تشخیص سریع و قابل اعتماد بیماری هستند. امروزه روش‌های تشخیصی گوناگونی مانند آزمایش ورم پستان کالیفرنیایی[1]، روش‌های مولکولی مانند انواع واکنش‌های زنجیره ای پلیمراز[2] و روش کشت میکروبی، برای تشخیص ورم پستان و روش‌های مولکولی و کشت میکروبی برای جداسازی عوامل عفونی ایجادگر بیماری، طراحی شده‌اند (۶، ۷ و ۸). این تحقیق، به منظور بررسی میزان شیوع دو باکتری *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* در شیر گاوان مبتلا به ورم پستان بالینی درگاوداری‌های صنعتی اطراف استان اصفهان، به دو روش کشت میکروبی و PCR انجام شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌ها، CMT و کشت میکروبی

در تابستان سال ۱۳۹۱ در کل ۱۲۳ نمونه شیر از گاوان مبتلا به ورم پستان بالینی از گاوداری‌های صنعتی اطراف اصفهان، جمع آوری شد. کلیه ۱۲۳ نمونه شیر

با رعایت شرایط بهداشتی کامل، در روز نمونه گیری در مجاورت یخ، به مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، انتقال داده شدند. کلیه ۱۲۳ نمونه شیر با روش CMT ارزیابی شدند (۶). به منظور جداسازی *استرپتوکوک* از نمونه‌های شیر مورد مطالعه، ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه در محیط آگار محتوی خون حاوی پنج درصد خون گوسفند، ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کلیستین و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نالیدیکسیک اسید کشت و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پرگنه‌های واجد کوکسی‌های گرم مثبت و کاتالاز منفی به عنوان پرگنه‌های مشکوک به *استرپتوکوک* انتخاب و برای تشخیص گونه باکتری دو آزمایش CAMP با استفاده از باکتری *استافیلوکوک اورئوس* و آزمایش هیدرولیز نشاسته روی آن‌ها انجام گرفت. پرگنه‌هایی که آزمایش CAMP آن‌ها مثبت و هیدرولیز اسکولین آن‌ها منفی بود به عنوان *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و پرگنه‌هایی که هر دو آزمایش آن‌ها منفی بود به عنوان *استرپتوکوکوس یوبریس* قلمداد شدند.

استخراج DNA

DNA ژنومی به شکل مستقیم از نمونه‌های شیر، به‌وسیله کیت استخراج DNA ساخت شرکت سیناژن ایران[۳] و با توجه به دستورالعمل کیت سازنده استخراج و تا زمان انجام PCR در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

واکنش زنجیره ای پلیمراز

واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ژن rDNA ۱۶S دو باکتری *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس*، انجام شد. توالی پرایمرهای طراحی شده برای تشخیص *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* در جدول ۱ نشان داده شده اند. کلیه شرایط واکنش با توجه به روش‌های پیشین انجام شد (۳ و ۹). در نهایت محصولات PCR روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم بروماید در ولتاژ ثابت ۹۰ ولت الکتروفورز و با استفاده از نور UV ارزیابی شد.

جدول ۱- توالی پرایمرهای اختصاصی برای تشخیص *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی

نام باکتری	ژن هدف	توالی پرایمر	اندازه محصول(bp)	منابع
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۱۶S rDNA	F: 3'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGA-5' R: 3'-CGGGTGTTACAAACTCTCGTGGT-5'	۱۴۰۰	۳
استرپتوکوکوس یوبریس	۱۶S rDNA	F: 3'-CGC TGA GGT TTG GTG TTT ACA-5' R: 3'-CAC TCC TAC CAA CGT TCT TC-5'	۴۰۵	۹

بررسی آماری

به منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج از آزمایش مربع کای و نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد. در این بررسی، P value < 0.05 به عنوان معنی دار، معرفی شد.

نتایج

کلیه ۱۲۳ نمونه شیر جمع آوری شده از گاوان مبتلا به ورم پستان بالینی در آزمایش ورم پستان کالیفرنیایی مثبت۳ بودند. پس از کشت شیرهای مورد مطالعه، باکتری‌های *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و

استرپتوکوکوس یوبریس به ترتیب ۱۶ و ۹ نمونه تشخیص داده شدند (جدول ۲). واکنش زنجیره ای پلیمراز نشان داد که از کل ۱۲۳ نمونه شیر، باکتری‌های *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* به ترتیب در ۲۴ و ۱۳ نمونه تشخیص داده شدند (جدول ۲). بنابراین، روش واکنش زنجیره ای پلیمراز از دقت بالایی برای تشخیص باکتری‌های *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* در نمونه‌های شیر، برخوردار است.

شکل ۱- واکنش زنجیره ای پلیمراز برای تشخیص باکتری‌های *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* در نمونه‌های شیر. (ستون M: نشانگر ۱ کیلو بازی DNA، ستون ۱= نمونه کنترل منفی، ستون‌های ۲ تا ۴: نمونه‌های مثبت برای باکتری *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و ستون‌های ۵ تا ۷: نمونه‌های مثبت برای باکتری *استرپتوکوکوس یوبریس*)

جدول ۲- مقایسه دو روش کشت میکروبی و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در تشخیص دو باکتری *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس* در شیر گاوان مبتلا به ورم پستان بالینی در گاوداری‌های صنعتی اطراف اصفهان

نام باکتری	درصد نمونه‌های مثبت در روش کشت	درصد نمونه‌های مثبت در واکنش زنجیره ای پلیمراز
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۱۳	۱۹/۵۱
استرپتوکوکوس یوبریس	۷/۳۱	۱۰/۵۶

بحث و نتیجه گیری

تاکنون به کارآمدی، دقت، سرعت و اطمینان روش واکنش زنجیره ای پلیمراز برای تشخیص گونه‌های *استرپتوکوک*، توجه زیادی شده است (۹ و ۱۰). در این مطالعه، بین میزان آلودگی شیرها به *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس یوبریس*، اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) مشاهده شد. به عبارت دیگر میزان شیوع *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* به مراتب از *استرپتوکوکوس یوبریس*، بیشتر بوده است. مطالعه ای در مصر (۱۱) نشان داد که ۳/۱۲ درصد شیرهای ورم پستانی از نظر حضور باکتری *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، مثبت بوده اند که این مقدار به مراتب از نتایج این پژوهش کمتر بوده است (۱۹/۵۱ درصد). مطالعه ای در کالیفرنیا (۱۲) نشان داد که از بین ۳۶۲ نمونه *استرپتوکوکی* که از گاوان مبتلا به ورم پستان جدا شده بودند، ۳۹/۹ درصد آن‌ها *استرپتوکوکوس یوبریس* و ۴۲/۲ درصد آن‌ها *استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه* بوده اند. مطالعه دیگری در کشور کره (۱۳) نشان داد که از کل ۱۷۸ نمونه *استرپتوکوکی* که از گاوان ورم پستانی جدا شده بودند، ۹۹ نمونه *استرپتوکوکوس یوبریس* و پنج نمونه *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* بوده اند که با نتایج این بررسی مغایرت دارد. مطالعه ای در کشور انگلیس نشان داد که میزان شیوع باکتری *استرپتوکوکوس یوبریس* و *اشریشیا کلی* در شیرهای ورم پستانی به ترتیب ۲۳/۵ درصد و ۱۹/۸ درصد بوده است (۱۴).

بررسی دیگری در کشور نیجریه نشان داد که از بین ۲۰۰ نمونه شیر گاوان مبتلا به ورم پستان بالینی، ۱۳۰ *استرپتوکوک* جدا شد که از بین آن‌ها *استرپتوکوکوس یوبریس*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس زواپیدمیکوس*،

استرپتوکوکوس بوویس و *استرپتوکوکوس اکوینیس* به ترتیب با میزان شیوع ۵۵/۴، ۲۴/۶، ۱۲/۳، ۳/۹، ۲/۳ و ۱/۵ درصد بیشترین و کمترین فراوانی را داشته اند (۸). بررسی دیگری نشان می‌دهد که پستان ۷۳ درصد گاوان بریتانیایی به باکتری *استرپتوکوکوس یوبریس* آلوده بوده ولی این باکتری تنها عامل ۱۴ درصد از ورم پستان‌های بالینی بوده است (۱۵).

نتایج این بررسی، که بیانگر میزان شیوع کمابیش بالای *استرپتوکوکوس یوبریس* و *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* در شیر گاوان مبتلا به ورم پستان بالینی می‌باشد، تأیید کننده نتایج بررسی‌های کیف[۴] و اکین و گورتوک[۵] می‌باشد که به ترتیب میزان شیوع را ۴۴ و ۴۴/۷ درصد بیان کردند (۱۷و۱۶). این بررسی، نشان داد که میزان شیوع باکتری *استرپتوکوکوس یوبریس* به مراتب از میزان شیوع باکتری *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* کمتر بوده است. علاوه بر این بین میزان شیوع این دو باکتری اختلاف آماری معنی دار، مشاهده شد. با وجود این، مطالعات بسیاری میزان شیوع باکتری *استرپتوکوکوس یوبریس* را بیشتر دانسته اند (۱۲، ۱۴ و ۱۵) که به نظر می‌رسد که منطقه جغرافیایی و شاید آب و هوا عامل‌های خطرسازی برای میزان شیوع این دو باکتری هستند.

این بررسی در استان اصفهان، نشان داد که گونه‌های *استرپتوکوک* و به ویژه *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* سهم بیشتری در بروز ورم پستان بالینی دارند. پیشنهاد می‌شود که کلیه کارکنان گاوداری‌ها، به ویژه کارکنان سالن‌های شیر دوشی بهداشت کامل را رعایت کنند. ضد عفونی کردن سرپستانک‌ها، شیردوشی منظم از گاوان و جلوگیری از انباشته شدن شیر در پستان، استفاده از دستکش‌های بهداشتی در سالن شیردوشی و در نهایت ضد عفونی کردن سالن شیر دوشی، به ویژه دستگاه شیردوش از اهمیت بالایی در کنترل و کاهش بروز ورم پستان برخوردار هستند. نویسندگان این مقاله استفاده از روش دقیق، سریع و قابل اعتماد واکنش زنجیره ای پلیمراز را برای بررسی و کنترل کیفیت بهداشتی شیر و تشخیص انواع میکروارگانیسم‌های بیماری زا، پیشنهاد می‌کنند.

تشکر و قدردانی

کلیه نویسندگان این مقاله از کارکنان محترم مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد و همچنین آقایان دکتر محمدهاشم فاضلی، دکتر شاهین نجات و دکتر فرهاد صفرپور دهکردی کمال تشکر و قدردانی را دارند. این بررسی در تابستان سال ۱۳۹۱ در مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد.

References

(1) Sordelli DO, Buzzola FR, Gomez MI, Steele-Moore L, Berg D, Gentilini E, et al. Capsule expression by bovine isolates of *Staphylococcus aureus* from Argentina: genetic and epidemiologic analyses. *J Clin Microbiol* 2000; 38(2): 846-50.

(2) Fortin M, Messier S, Paré J, Higgins R. Identification of catalase-negative, non-beta-hemolytic, gram-positive cocci isolated from milk samples. *J Clin Microbiol* 2003; 41(1): 106-9.

(3) Khan IU, Hassan AA, Abdulmawjood A, Lämmler C, Wolter W, Zschöck M. Identification and epidemiological characterization of *Streptococcus uberis* isolated from bovine mastitis using conventional and molecular methods. *J Vet Sci* 2003; 4(3): 213-24.

(4) Myllys V, Rautala H. Characterization of clinical mastitis in primiparous heifers. *J Dairy Sci* 1995; 78(3): 538-45.

(5) Ko WC, Lee HC, Wang LR, Lee CT, Liu AJ, Wu JJ. Serotyping and antimicrobial susceptibility of group B *Streptococcus* over an eight-year period in southern Taiwan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20(5): 334-9.

(6) Schalm OW, Noorlander DO. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *J Am Vet Med Assoc* 1957; 130(5): 199-204.

(7) Vieira-da-Motta O, Folly MM, Sakyiama CCH. Detection of different *Staphylococcus aureus* strains in bovine milk from subclinical mastitis using PCR and routine techniques. *Braz J Microbiol* 2001; 32(1): 27-31.

(8) Amosun EA, Ajuwape ATP, Adetosoye AI. Bovine *Streptococcal* mastitis in Southwest and Northern states of Nigeria. *Afr J Biomed Res* 2010; 13(1): 33-7.

(9) Riffon R, Sayasith K, Khalil H, Dubreuil P, Drolet M, Lagacé J. Development of a rapid and sensitive test for identification of major pathogens in bovine mastitis by PCR. *J Clin Microbiol* 2001; 39(7): 2584-9.

(10) Meiri-Bendek I, Lipkin E, Friedmann A, Leitner G, Saran A, Friedman S, et al. A PCR-based method for the detection of *Streptococcus agalactiae* in milk. *J Dairy Sci* 2002; 85(7): 1717-23.

(11) Abd El-Razika KA, Abdelrahmanb KA, Ahmeda YF, Gomaac AM, Eldebakya HA. Direct identification of major pathogens of the bubaline subclinical mastitis in Egypt using PCR. *J Am Sci* 2010; 6(1): 652-60.

(12) Rossitto PV, Ruiz L, Kikuchi Y, Glenn K, Luiz K, Watts JL, et al. Antibiotic susceptibility patterns for environmental *streptococci* isolated from bovine mastitis in central California dairies. J Dairy Sci 2002; 85(1): 132-8.

(13) Nam HM, Lim SK, Kang HM, Kim JM, Moon JS, Jang KC, et al. Antimicrobial resistance of *streptococci* isolated from mastitic bovine milk samples in Korea. *J Vet Diagn Invest* 2009; 21(5): 698-701.

(14) Bradley AJ, Leach KA, Breen JE, Green LE, Green MJ. Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Vet Rec* 2007; 160(8): 253-7.

(15) Bramley AJ, Dodd FH. Reviews of the progress of dairy science: mastitis control--progress and prospects. *J Dairy Res* 1984; 51(3): 481-512.

(16) Keefe GP. *Streptococcus agalactiae* mastitis: a review. *Can Vet J* 1997; 38(7): 429-37.

(17) Ekin IH, Gurturk K. Characterization of bovine and human group B *streptococci* isolated in Turkey. *J Med Microbiol* 2006; 55(Pt 5): 517-21.

---

[1]. California Mastitis Test (CMT)
[2]. Polymerase Chain Reaction (PCR)
[3]. DNP^{TM} DNA Purification KIT
[4]. Keefe
[5]. Ekin and Gurturk

Molecular detection of *Streptococcus uberis* and *Streptococcus agalactiae* in the mastitic cows milks in Isfahan province

Hassan Momtaz *
Associate Professor of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Iran, hamomtaz@yahoo.com
Mohammad Seyed Froutan
DVM, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Iran, msforootan_vet85@yahoo.com
Taghi Taktaz
Assistant Professor of Theriogenology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Iran, taghi_taktaz@yahoo.com
Mojtaba Sadeghi
DVM, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Iran, sadeghi_vet@yahoo.com

Abstract

Introduction: Mastitis is one of the most prevalent and important diseases in dairy cow herds. It is an inflammatory disease of mammary gland which is caused by many infectious agents. *Streptococcus uberis* and *Streptococcus agalactiae* have been frequently isolated from bovine mastitic milk. This research was carried out to study the prevalence of *Streptococcus uberis* and *Streptococcus agalactiae* in the milk of cows with clinical mastitis in industrial dairy farms around the province of Isfahan.

Materials and Methods: In total, 123 milk samples were collected from cows with clinical mastitis and then, were immediately transferred to the laboratory. Mastitic milks were confirmed using California Mastitis Test and then, all samples were tested using microbial and biochemical tests. Finally, all 123 samples were tested using PCR.

Results: Culture results showed that 16% and 7.31% of the milk samples were positive for *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus uberis*, respectively. The PCR showed that 19.51% and 10.56% of the samples were infected with *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus uberis*, respectively.

Discussion and Conclusion: This study showed that the Polymerase Chain Reaction has a higher accuracy and safety than the culture method. Therefore, we recommend the use of Polymerase Chain Reaction for inspection of microbial quality of milk samples.

Key words: *Streptococcus agalactiae, Streptococcus uberis,* Mastitic milk, Isfahan

* Corresponding Author
Received: October 15, 2012/ **Accepted:** December 29, 2012