بررسی آلودگی بار میکروبی کل، کلی فرم، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر و غلظت آمیلوئید A در نمونه‌های شیر مخزن دامداری‌های استان تهران

محمدرضا تقدیری[1]، گیتی کریم[2*]، شهاب الدین صافی[1]، عباس رحیمی فروشانی[3]، عباسعلی مطلبی[2]

۱.گروه پاتوبیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳. گروه اپیدمیولوژی و آمار حیاتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[*]نویسنده مسئول: *Gkarim@ut.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۱۰

چکیده

ارزیابی کیفیت میکروبی شیر خام با توجه به مصرف روزافزون شیر و هم چنین امکان تبدیل آن به فراورده‌های شیری، بسیار مهم است. مطالعه بار میکروبی شیر خام و سنجش پروتیئن‌های فاز حاد می‌توانند اطلاعات دقیق از شرایط بهداشتی و کیفی شیر خام تعیین کنند. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی بار میکروبی و سنجش آمیلوئید A در نمونه‌های شیر مخزن دامداری‌های استان تهران انجام شد. ابتدا ۹۰ نمونه شیر خام جمع آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد. شمارش سلول‌های پیکری نمونه‌های شیر به روش الکترونیک فلورسانس انجام شد. سپس شمارش کلی میکروبی، کلی فرم، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر انجام پذیرفت. غلظت آمیلوئید A در نمونه‌های شیر خام با استفاده از روش الایزا تعیین شد. میانگین شمارش کلی میکروب ها، کلی فرم، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر به ترتیب ۱۵×۱۰^{۵}، ۱۲×۱۰^{۴}، ۲۹×۱۰^{۳}، ۱۴×۱۰^{۳} و ۱۸×۱۰^{۵} پرگنه در هر میلی‌لیتر بود. شمارش کلی میکروب‌ها در ۷۲/۲۳ درصد از نمونه‌های مورد آزمون بیشتر از حد مجاز استاندارد بود. میانگین تعداد یاخته‌های پیکری، ۳×۱۰^{۵} سلول در هر میلی-لیتر شیر بود که در ۶۱/۱۱ درصد از نمونه‌های شیر بیشتر از حد مجاز استاندارد بود. میانگین و انحراف معیار آمیلوئید A در نمونه‌های شیر، ۵۵۱/۸۳±۴۷/۹۶ نانوگرم به ازای هر میلی‌لیتر شیر بود. نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده کیفیت نسبی نمونه‌های شیر مخزن دامداری‌های استان تهران است. بالا بودن تعداد یاخته‌های پیکری و همچنین غلظت آمیلوئید A در نمونه‌های شیر خام نشان دهنده امکان بروز ورم پستان تحت بالینی در گاوهای مورد نظر است.

کلید واژه ها: بار میکروبی، شیر خام، آمیلوئید A، استان تهران.

مقدمه

شیر، یکی از پرمصرف‌ترین محصولات شیری است که از ارزش غذایی بسیار زیادی برخوردار است. شیر غنی از چربی‌های سهل الهضم و ضروری، پروتئین‌های قابل دسترس، برخی از انواع ویتامین‌ها و مواد معدنی خصوصا کلسیم است (Pereira, 2014). شیر در زمان ترشح از پستان دام سالم دارای میکروارگانیسم‌های اندکی است و آلوده شدن آن ممکن است در زمان دوشیدن یا طی فرآیندهای پس از دوشیدن رخ دهد (Hill et al., 2012; Vithanage et al., 2017). از جمله میکروب‌های مهم که به راحتی می‌توانند سبب آلودگی شیر شوند می‌توان به *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی* و انواع کلی فرم‌ها و کپک‌ها و مخمرها اشاره نمود (Agarwal et al., 2012; Hill et al., 2012; Vithanage et al., 2017). حضور این میکروارگانیسم‌ها در شیر علاوه بر ایجاد مسمومیت‌های غذایی، می‌تواند دلیلی برای کاهش کیفیت شیر و تغییر رنگ، عطر و طعم و سایر خصوصیات ارگانولپتیک آن باشد. بنابراین برای تضمین سلامت شیر خام برخی استانداردها توسط استاندارد ملی ایران تعیین شده است که اکثرا بر پایه شمارش تعداد کل میکروارگانیسم

ها، کلی فرم ها، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر است (ISIRI No. 8923-5; ISIRI No. 6806-1; ISIRI No. 9263; ISIRI No. 1054). سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با تولید انتروتوکسین هاس مقاوم در برابر حرارت به عنوان عوامل ایجاد کننده گاستروآنتریت در نظر گرفته می‌شوند (Agarwal et al., 2012). حضور کلی فرم‌های مدفوعی مانند *اشریشیا کلی* دلالت بر آلودگی شیر با مدفوع حیوانی یا انسانی دارد. بیماری‌های اسهالی توسط پاتوتیپ‌های مختلفی از باکتری *اشریشیا کلی* مانند *اشریشیا کلی* انتروپاتوژنیک (اسهال نوزادان در کشورهای در حال توسعه)، *اشریشیا کلی* انتروتوکسیژنیک (اسهال و گاستروآنتریت در مسافران)، *اشریشیا کلی* شیگاتوکسیژنیک (اسهال بعضا خونی، کولیت خونریزی دهنده و سندرم همولیتیک-اورمیک) و در نهایت *اشریشیا کلی* مهاجم روده‌ای (حمله به روده بزرگ و بروز بیماری شیگلوز در کشورهای در حال توسعه) ایجاد می‌شود (Yang et al., 2017). حضور کپک و مخمر در شیر خام دلالت بر بروز فساد در ماده غذایی و بعضا تولید توکسین‌های قارچی دارد. وجود آلودگی کپک و مخمری بالا در شیر خام موجب عدم کفایت پاستوریزاسیون در از بین بردن کامل آن‌ها شده و در صورت نگهداری طولانی مدت محصولات، فرصت رشد و تکثیر پیدا می‌کنند. میسلیوم‌های با دیواره ضخیم و اسپور برخی از گونه‌های کپکی با پاستوریزاسیون غیرفعال نمی‌شوند و در صورت مناسب بودن شرایط رشد از نظر حرارت و رطوبت، به سرعت در سطح مواد غذایی رشد می‌کنند و تعداد زیادی از آن‌ها ترکیبات سمی مایکوتوکسین تولید می‌کنند (Agarwal et al., 2012). بنابراین پایش بهداشتی شیر خام از نظر حضور و تعداد انواع میکروارگانیسم‌های بیماری زا بسیار مهم و ضروری می‌باشد.

تغییر در ترکیبات شیر و شبیه شدن آن به ترکیبات خون که معمولا در بیماری ورم پستان در گاوهای شیری مشاهده می‌شود، یکی دیگر از عواملی است که سبب کاهش کیفیت شیر خام می‌گردد. تورم پستان به التهاب غدد پستانی بدون توجه به عامل آن اطلاق می‌شود که با افزایش تعداد گلوبول‌های سفید و سلول‌های پیکیری همراه است. در ورم پستان بالینی، تورم کاملا مشخص در بافت پستان دام مبتلا به همراه تغییر کاملا واضح در رنگ، عطر و طعم و سایر خصوصیات ارگانولپتیک شیر ایجاد می‌شود به صورتی که به شکل واضح قابل تشخیص است. اما در ورم پستان تحت بالینی، تورم در ناحیه پستان دیده نمی‌شود و تشخیص شیر مبتلا به این نوع ورم پستان بسیار مشکل است (Thompson-Crispi et al., 2014). از دیرباز روش‌های مختلفی برای تشخیص شیرهای ورم پستانی در دسترس است (Thompson-Crispi et al., 2014). امروزه تعیین غلظت پروتئین‌های فاز حاد در سرم و شیر به عنوان یکی از دقیق‌ترین روش‌های تشخیص شیرهای ورم پستانی در نظر گرفته می‌شود. یکی از مهم‌ترین انواع پروتئین‌های فاز حاد، آمیلوئید A نام دارد که به عنوان یکی از شناساگرهای اختصاصی التهاب پستان در نظر گرفته می‌شود (Hussein et al., 2018). از آنجا که سرم آمیلوئید A به عنوان شاخصی با حساسیت و ویژگی بالا در مقایسه با سایر پارامترهای تشخیصی، به هنگام بروز التهاب پستان به سرعت در شیر ظاهر شده و غلظت آن افزایش بیشتری می‌یابد و از سویی به دلیل سنتز داخل پستانی آمیلوئید A، اندازه گیری غلظت آن در مقایسه با سایر پروتئین‌های فاز حاد مانند هاپتوگلوبین که امکان نشت آن از سرم به درون شیر وجود دارد، ارزش تشخیصی به مراتب بالاتری خواهد داشت (Hussein et al., 2018).

شیر روزانه توسط میلیون‌ها نفر مورد استفاده قرار می‌گیرد. شیر خام با کیفیت میکروبی بالا به راحتی می‌تواند در اثر فرایند های پاستوریزاسیون و همچنین استریلزاسیون عاری از انواع میکروارگانیسم‌های غذازاد

و عامل فساد مواد غذایی گردد. همچنین شیر خام با کمیفیت میکروبی بالا به راحتی می‌توانند به انواع فراورده‌های شیری تبدیل شود. از طرفی از آنجایی که تشخیص شیرهای ورم پستانی خصوصا در موارد ابتلای گاوهای شیری به ورم پستان تحت بالینی مشکل و معمولا غیرممکن است، در نتیجه ارزیابی روش‌های تشخیصی دقیق‌تر می‌تواند کمک‌های زیادی به صنعتی تولید شیر کشور نماید. لذا مطالعه حاضر به منظور ارزیابی آلودگی بار میکروبی کل، کلی فرم، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر و همچنین غلظت آمیلوئید A در نمونه‌های شیر مخزن دامداری‌های استان تهران انجام پذیرفت.

روش کار

نمونه گیری

مطالعه حاضر یک پژوهش از نوع توصیفی و مقطعی است. جهت انتخاب نمونه‌های شیر، ابتدا لیست گاوداری هایی که با شرکت پگاه تهران طرف قرارداد بودند، تهیه شد. بر اساس موقعیت مکانی، این گاوداری‌ها به ۵ منطقه جغرافیایی شمال، جنوب، شرق، غرب و مرکز استان تهران تقسیم بندی شدند. سپس متناسب با تعداد گاوداری‌های هر طبقه، تعداد ۳۰ گاوداری از این مناطق انتخاب شد. برای انتخاب گاوداری‌ها در هر منطقه از روش نمونه گیری تصادفی ساده استفاده شد. از مخزن هر یک از گاوداری‌های مذکور به هنگام تحویل شیر به کارخانه ۳ نمونه در ۳ نوبت مختلف به منظور در نظر گرفتن تغییرات احتمالی در نمونه‌ها برداشت شد. بنابراین در کل ۹۰ نمونه شیر جمع آوری شد. به منظور برداشت نمونه، ابتدا شیر درون مخزن به مدت ۱۵ دقیقه از طریق دریچه بالایی آن همزده شد تا کاملا یکنواخت گردد. نمونه برداری از شیر مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۳۲۶ انجام پذیرفت (ISIRI 326). سپس به میزان حداقل ۲۰۰ میلی‌لیتر، شیر از مخزن برداشت شد. نمونه‌های جمع آوری شده پس از تقسیم برای آزمایش‌های مختلف در اسرع وقت و در مجاورت یخ به آزمایشگاه ارسال شد. تمام آزمایشات روی نمونه شیر تازه مخزن انجام پذیرفت و تنها آن بخش از نمونه‌ها که جهت اندازه گیری پروتئین‌های فاز حاد در نظر گرفته شده بودند تا زمان انجام آزمایش به فریزر ۷۰- درجه سلسیوس انتقال یافتند.

شمارش تعداد سلول‌های پیکری

شمارش سلول‌های پیکری در نمونه‌های شیر به روش الکترونیک فلورسانس[1] و با استفاده از دستگاه شمارشگر سلولی فوزوماتیک (Fossomatic 5000; Foss, Hillerød, Denmark) روی نمونه‌های تازه شیر مخزن انجام پذیرفت.

ارزیابی میکروبی نمونه‌های شیر خام

روش‌های آماده سازی، تهیه سوسپانسیون اولیه و نیز رقت‌های سریالی شیر برای آزمون‌های میکروبی مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۵-۸۹۲۳ انجام پذیرفت (ISIRI 8923-3). برای این منظور، ۱۰ میلی-لیتر از نمونه شیر مورد نظر با ۹۰ میلی‌لیتر سرم رینگر سترون مخلوط شد (رقت ۰/۱). سپس رقت‌های بعدی نیز با استفاده از سرم رینگر سترون تهیه شد.

بدین منظور پس از تهیه رقت‌های اعشاری طبق استاندارد ملی شماره ۵-۸۹۲۳ (ISIRI 8923-5)، جهت شمارش کلی میکروبی طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۳۶۸ از روش کشت مخلوط[2] در محیط کشت پلیت کانت آگار[3] و گرم خانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد (ISIRI 1368).

جهت شناسایی و شمارش باکتری‌های کلیفرم طبق استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۶۳ (ISIRI 9263) از هر یک از رقت‌های مورد نظر در محیط کشت ویولت

[1]-Electronic Fluorescence Based Cell Counting
[2] Pour plate
[3] Plate Count Agar (PCA)

رد بایل آگار[1] (VRBA) به روش مخلوط کشت داده شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرم خانه گذاری شد. برای تایید و شمارش کلی فرم‌های قطعی، پرگنه‌های مشکوک به کلی فرم که در محیط VRBA رشد کرده بودند، به لوله‌های آزمایش حاوی لوله دورهام و محیط کشت آبگوشت سبز درخشان لاکتوز دار[2] (BGBL) منتقل شدند و پس از گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، وجود کلی فرم در هر یک از لوله‌های آزمایش که در آن گاز تجمع یافته بود، تایید شد. در نهایت تعداد کلی فرم‌ها در هر گرم از نمونه‌های شیر محاسبه گردید.

جهت شناسایی باکتری *اشریشیا کلی*، کلی فرم‌های شناسایی شده در مرحله قبل به محیط کشت BGBL حاوی لوله دورهام و محیط پپتون واتر منتقل و در دمای ۴۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرم خانه گذاری شدند. در این شرایط باکتری *اشریشیا کلی* تولید گاز کرده و تست اندول آن مثبت می‌کردد. به منظور تایید تشخیص، یک حلقه از هر یک از محیط های BGBL برداشت کرده و روی محیط کشت ائوزین متیلن بلو به صورت خطی کشت داده شد. کلنی های با رنگ ارغوانی تیره با مرکز سیاه دارای جلای سبز رنگ پس از انجام تست های بیوشیمیایی IMViC به عنوان *اشریشیا کلی* در نظر گرفته شدند. بر این اساس تعداد *اشریشیا کلی* در هر گرم از نمونه‌ها محاسبه شد.

جداسازی و شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به روش کشت سطحی[3] و با استفاده از محیط کشت برد پارکر آگار[4] انجام گردید. جهت تایید پرگنه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، تست کوواگولاز انجام شد (ISIRI 6806-1).

بررسی میزان آلودگی هر یک از نمونه‌ها به کپک و مخمر به روش کشت مخلوط و با استفاده از محیط کشت عصاره مخمر دکستروز کلرامفنیکل آگار[5] (YGC agar) و گرم خانه گذاری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ تا ۵ روز انجام شد (ISIRI 10154).

ارزیابی میزان آمولوئید A نمونه‌های شیر

اندازه گیری غلظت آمیلوئید A شیر به روش الایزا و با استفاده از کیت تجارتی ساخت شرکت تری دلتای ایرلند (Mast ID Range, Tridelta Development Ltd, Wicklow, Ireland) و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده کیت، انجام شد. برای این منظور، پس از خارج کردن نمونه‌های شیر از انجماد و رسیدن دمای آنها به دمای اتاق، نمونه‌ها به خوبی با دستگاه شیکر[6] همگن شد. سپس نمونه‌های مذکور به نسبت ۱ به ۵۰ با بافر رقیق کننده نمونه، رقیق شدند. در هر یک از چاهک‌های میکرو پلیت الایزا، به میزان ۵۰ میکرولیتر آنتی بادی مونوکلونال و بایوتینیله[7] شده آمیلوئید A که که به نسبت ۱ به ۱۰۰ با بافر رقیق کننده رقیق شده بود، ریخته شد. سپس به هریک از چاهک‌های مربوط به نمونه ها، ۵۰ میکرولیتر از شیر رقیق شده و به هریک از چاهک‌های مربوط به استاندارد، ۵۰ میکرولیتر از شیر رقیق شده افزوده شد. با تکان دادن میکروپلیت نمونه‌ها را به خوبی مخلوط کرده سپس میکروپلیت را با پوششی تیره به خوبی پوشانیده تا به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شوند. بعد از مرحله گرمخانه گذاری، محلول درون چاهک‌ها آسپیره و ۴ بار با بافر شوینده رقیق شده شستشو داده شد. پس از آخرین مرتبه شستشو، میکروپلیت روی کاغذ جاذب رطوبت کوبیده شد تا قطرات اضافی خارج شوند. در مرحله بعد به هر یک از چاهک‌های میکروپلیت، ۱۰۰

[1] Violet Red Bile agar
[2] Brilliant green bile lactose broth
[3] Surface Plate Count
[4] Baird Parker Agar

[5] Yeast extract dextrose chloramphenicol agar
[6] Shaker
[7] Biotinylated monoclonal antibody

میکرولیتر استرپتاویدین–هورس ردیش پراکسیداز [1] افزوده شد. سپس مجددا روی میکروپلیت پوشانده شده تا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در محلی تاریک قرار داده شود. به دنبال سپری شدن این مدت، نمونه‌ها آسپیره شده و ۴ بار شستشو داده شدند. در پایان و پس از آخرین مرتبه شستشو، میکروپلیت روی کاغذ جاذب رطوبت کوبیده شد تا قطرات اضافی آن خارج شده و خشک شود. در این مرحله به هر یک از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از سوبسترای TMB افزوده شد. بار دیگر سطح میکروپلیت با پوششی تیره پوشانده شده تا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در فضای تاریک قرار گیرد. با پایان این مدت به هریک از چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر محلول توقف دهنده واکنش اضافه گردید. در پایان میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر و در مقابل بلانک خوانده شد سپس با استفاده از مقادیر استاندارد و میزان جذب نوری آنها منحنی استاندارد رسم شد تا غلظت آمیلوئید A در هریک از نمونه‌ها بر حسب نانوگرم در میلی‌لیتر به دست آید.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

تجزیه و تحلیل نتایج تحقیق حاضر با استفاده از نرم افزار SPSS صورت پذیرفت. در آغاز با بهره گیری از آزمون کولموگروف – اسمیرنوف[2] یک نمونه‌ای مشخص شد که توزیع داده‌های مربوط به شمارش میکروارگانیسم‌ها و آمیلوئید A شیر توزیع نرمال ندارند. در نتیجه به منظور مقایسه داده‌های حاصل از شمارش میکروارگانیسم‌ها و آمیلوئید A شیر، آزمون من–ویتنی[3] به کار گرفته شد. سطح معنی داری در این مطالعه، ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

جدول ۱ میزان آلودگی میکروبی شیر های مورد آزمون در مطالعه حاضر را نشان می‌دهد. بر طبق نتایج بدست آمده از این جدول، شمارش کلی میکروب‌ها در ۷۲/۲۳ درصد از نمونه‌های مورد آزمون بیشتر از حد مجاز استاندارد (۱×۱۰^{۶} پرگنه در هر گرم) بود. نتایج آزمون آماری، نشان دهنده اختلاف معنادار آلودگی میکروبی کل نمونه‌های مورد آزمایش با حد مجاز استاندارد می‌باشد ($P < ۰/۰۵$). در نتیجه با احتمال ۹۵ درصد می‌توان بیان کرد که میزان آلودگی نمونه‌های شیر خام استان تهران از نظر شمارش کلی میکروب‌ها بیشتر از حد مجاز معرفی شده از سوی موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران بود. میانگین شمارش کلی فرم، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر در نمونه‌های شیر خام مورد مطالعه به ترتیب ۱۲×۱۰^{۴}، ۲۹×۱۰^{۳}، ۱۴×۱۰^{۳} و ۱۸×۱۰^{۵} بود. بر طبق نتایج بدست آمده، شمارش کلی فرم، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر به ترتیب در ۲۸/۸۸، ۲۰، ۷/۷۷ و ۴۳/۳۳ درصد از نمونه های مورد آزمون بیشتر از حد مجاز استاندارد (به ترتیب $۱۰^{۲}$ (Bogdanovičová et al., 2016)، ۱×۱۰^{۳} (Bogdanovičová et al., 2016)، ۵×۱۰^{۲} (Bogdanovičová et al., 2016) و $۱۰^{۴}$ (Buchl and Seiler. 2011) پرگنه در هر گرم) بود. نتایج آزمون آماری، نشان دهنده اختلاف معنادار شمارش کلی فرم و کپک و مخمر نمونه‌های مورد آزمایش با حد مجاز استاندارد می‌باشد ($P < ۰/۰۵$). در نتیجه با احتمال ۹۵ درصد می‌توان بیان کرد که میزان آلودگی نمونه‌های شیر خام استان تهران از نظر شمارش کلی فرم و کپک و مخمر بیشتر از حد مجاز بود.

جدول ۲ ارزیابی تعداد یاخته‌های پیکری موجود در نمونه‌های شیر خام جمع آوری شده از استان تهران را نشان می‌دهد. میانگین تعداد یاخته‌های پیکری در نمونه‌های شیر خام جمع آوری شده از استان تهران، ۳×۱۰^{۵} سلول در هر میلی‌لیتر شیر بود. بر طبق نتایج بدست ۶۱/۱۱ درصد از نمونه‌های شیر خام دارای تعداد

[1] Streptavidin–Horse radish Peroxidase
[2] One-sample Kolmogorov – Smirnov test
[3] Mann-Whitney

یاخته‌های پیکری بیش از حد مجاز اعلام شده از سوی موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران بودند.

جدول ۳ غلظت آمیلوئید A در نمونه‌های شیر را نشان می‌دهد. بر حسب نتایج بدست آمده از این جدول، میزان میانگین و انحراف معیار آمیلوئید A در نمونه‌های شیر، ۵۵۱/۸۳±۴۷/۹۶ نانوگرم به ازای هر میلی‌لیتر شیر بود. متاسفانه تا کنون هیچ حد مجازی برای غلظت آمیلوئید A در نمونه های شیر معرفی نشده است.

جدول ۱- ارزیابی آلودگی‌های میکروبی نمونه‌های شیر جمع آوری شده از استان تهران

نوع آزمون	تعداد نمونه شیر	فراوانی آلودگی (درصد)	شمارش میکروبی (cfu/ml)				
			حداقل	حداکثر	میانگین	حد مجاز	درصد آلودگی بیش از حد مجاز
شمارش کلی میکروب‌ها	۹۰	۹۰ (۱۰۰)	$۱۰^{۳}$	۵۶×۱۰^{۶}	۱۵×۱۰^{۵}	$۱۰^{۶}$	۷۲/۲۳
شمارش کلی فرم	۹۰	۶۲ (۶۸/۸۸)	۲×۱۰^{۲}	۱۲×۱۰^{۵}	۱۲×۱۰^{۴}	$۱۰^{۲}$	۲۸/۸۸
شمارش *اشریشیا کلی*	۹۰	۱۸ (۲۰)	۰	۹۰×۱۰^{۴}	۲۹×۱۰^{۳}	۱×۱۰^{۳}	۲۰
شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*	۹۰	۱۳ (۱۴/۴۴)	$۱۰^{۲}$	۴۲×۱۰^{۴}	۱۴×۱۰^{۳}	۵×۱۰^{۲}	۷۷/۷
شمارش کپک و مخمر	۹۰	۶۸ (۷۵/۵۵)	۵×۱۰^{۲}	۲۵×۱۰^{۶}	۱۸×۱۰^{۵}	$۱۰^{۴}$	۴۳/۳۳

جدول ۲- ارزیابی تعداد یاخته‌های پیکری موجود در نمونه‌های شیر خام جمع آوری شده از استان تهران

نوع آزمون	شمارش تعداد یاخته‌های پیکری (سلول در هر میلی‌لیتر شیر)				
	حداقل	حداکثر	میانگین	حد مجاز	درصد آلودگی بیش از حد مجاز
یاخته‌های پیکری	۲×۱۰^{۲}	۹۴×۱۰^{۶}	۳×۱۰^{۵}	۵×۱۰^{۵}	۶۱/۱۱

جدول ۳- غلظت آمیلوئید A در نمونه‌های شیر مورد بررسی

پارامتر	غلظت آمیلوئید A (نانوگرم بر میلی‌لیتر شیر)		
	میانگین±انحراف معیار	میانه	پایین‌ترین و بالاترین مقدار
آمیلوئید A شیر	۵۵۱/۸۳±۴۷/۹۶	۵۰۴/۳۵	۰/۴-۲۳۰۵/۷

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که میانگین شمارش کلی میکروب ها، کلی فرم ها، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر در نمونه‌های شیر خام جمع آوری شده از استان تهران به ترتیب ۱۵×۱۰^{۵}، ۱۲×۱۰^{۴}، ۲۹×۱۰^{۳}، ۱۴×۱۰^{۳} و ۱۸×۱۰^{۵} پرگنه در هر میلی‌لیتر بود. همچنین تعداد میانگین یاخته‌های پیکری ۳×۱۰^{۵} سلول در هر میلی‌لیتر از شیر بود. همچنین میانگین و انحراف معیار میزان آمیلوئید A در نمونه‌های شیر، ۵۵۱/۸۳±۴۷/۹۶ بود. نتایج این تحقیق در کل نشان دهنده آلودگی میکروبی بالای نمونه‌های شیر بود. همچنین حضور مقادیر بالا از آمیلوئید A در نمونه‌های شیر می‌تواند تایید کننده وجود ورم پستان تحت بالینی در گاوداری‌های استان تهران باشد. حد مجاز تعداد یاخته‌های پیکری در شیر خام ۵×۱۰^{۵} سلول در هر میلی‌لیتر است. در نتیجه

میانگین یاخته‌های پیکری در نمونه‌های شیر مورد بررسی، کمتر از حد مجاز معرفی شده بود.

ارزیابی آلودگی نمونه های شیر خام به میکروارگانیسم ها خصوصا میکروارگانیسم های مزوفیل هوازی، کلی فرم ها، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر از نظر بهداشتی و ارزیابی کیفی شیر حائز اهمیت است. جستجوی باکتریولوژیک کلی فرم‌ها در بیشتر آزمایشگاه های کنترل شیر خام در شمار بررسی های بهداشتی روزانه و جاری شیر خام و پاستوریزه است. اکثرا مشکل آلودگی با کلی فرم‌ها در مورد شیر خام مطرح است (Wanjala et al., 2018). ارزیابی حضور و تعداد باکتری *اشریشیا کلی* نیز به دلیل تولید انواعی از زهرابه‌ها خصوصا شیگا توکسین می‌تواند اهمیت فراوانی در زمینه بهداشت شیر خام داشته باشد (Ranjbar et al., 2018). توانایی تولید انتروتوکسین توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* می تواند سبب بروز یک مشکل بهداشتی عمده در زمینه مصرف مواد غذایی آلوده شود. وجود انتروتوکسین مقاوم به حرارت از نظر ظاهری هیچ گونه تغییری در مواد غذایی بوجود نیاورده و هیچ گونه تأثیری در طعم و بوی مواد غذایی نمی گذارد. بنابراین ارزیابی حضور و تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز در شیر خام حائز اهمیت است (Wang et al., 2018). کپک‌ها میکروارگانیسم های مقاوم در برابر محیط اسیدی و سرما هستند و در هر ماده غذایی می توانند رشد کنند. شیر و فرآورده های شیری خاصیت اسیدی دارند. در نتیجه به راحتی می توانند توسط کپک ها آلوده شوند. همچنین کپک‌ها و مخمرها توانایی تولید سموم قارچی مایکوتوکسین را در مواد غذایی از جمله شیر را دارند که مصرف شیر آلوده به این زهرابه‌ها می‌تواند سبب آسیب‌های کبدی، جهش‌های ژنتیکی، سقط جنین و ناقص الخلقه زایی شود (Moubasher et al., 2018).

مطالعات متفاوتی به منظور ارزیابی کیفیت میکروبی شیر خام و فراورده‌های شیری انجام شده است. Zoilfaghari و همکاران در سال ۲۰۱۲ (Zolfaghari et al., 2012) اقدام به مطالعه آلودگی میکروبی شیر و فراورده‌های شیری در جمع آوری شده از استان قم نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد که از نظر کیفی، ۸۰۹ مورد (۸۹/۶۰ درصد) از نمونه‌های مورد بررسی، دارای کیفیت قابل قبول و ۹۴ مورد (۱۰/۴۰ درصد) دارای کیفیت غیرقابل قبول بودند. در مجموع میکورارگانیسم‌های آلوده کننده غیر قابل قبول که بیش از حد مجاز استاندارد در نمونه‌های مورد بررسی یافت شدند به ترتیب انتروباکتریاسه (۶/۳ درصد)، *اشریشیا کلی* (۶.۱/ درصد)، کپک و مخمر (۴/۸ درصد)، کلی فرم (۴/۷ درصد)، باکتری‌های مزوفیل هوازی (۴/۲ درصد) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱/۱ درصد) بودند که با بخشی از نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. Keshavarzpour و همکاران در سال ۲۰۱۶ (Keshavarzpour et al., 2016) اقدام به مطالعه آلودگی باکتریایی و کپکی شیر و فراورده‌های شیری جمع آوری شده از استان اصفهان نمودند. نتایج این تحقیق نشان داد که در مجموع ۱۵ نمونه (۹/۷ درصد) از نظر کلی فرم، ۱۱ نمونه (۷۷/۱ درصد) از نظر *اشریشیا کلی* و ۲۰ نمونه (۱۳/۰۰ درصد) از نظر شمارش کپک و مخمر، بیش از حد مجاز استاندارد بودند. در بین قارچ‌های جدا شده از نمونه‌های شیر در استان اصفهان، *پنی سیلیوم*[1] (۳۳/۵۴ درصد)، *آسپرژیلوس نیجر*[2] (۱۰/۳۲ درصد)، *ژئوتریکوم*[3] (۳۸/۸۰ درصد)، *کلادوسپوریوم*[4] (۵/۸۰ درصد) و *کاندیدا آلبیکنز*[5] (۱/۲ درصد) بیشترین فراوانی را داشتند. Crump و همکاران در سال (Crump et al., 2002) مطالعه‌ای روی ۲۱۶ نمونه شیر انجام دادند و در ۲۸ مورد (۱۳ درصد) از نمونه‌ها باکتری *اشیرشیا کلی*

[1] Penicillium
[2] *Aspergillus niger*
[3] Geotrichum
[4] Cladosporium
[5] *Candida albicans*

جداسازی شد. Salari و همکاران در سال ۲۰۰۷ (Salari et al., 2007) ادغام به مطالعه آلودگی میکروبی شیر و فراورده‌های آن در استان یزد نمودند. نتایج این تحقیق نشان داد که میانگین شمارش تعداد کل باکتری‌ها در نمونه‌های شیر ۳۵×۱۰^{۴} پرگنه در هر میلی‌لیتر بود که ۸/۳ درصد از نمونه‌ها دارای آلودگی بیشتر از حد مجاز بودند. میانگین شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های شیر $۱۰^{۲}$ پرگنه در هر میلی‌لیتر بود که ۳۷/۵۰ درصد از نمونه‌ها دارای آلودگی بیشتر از حد مجاز بودند. میانگین شمارش کلی فرم‌ها در نمونه‌های شیر ۶۶/۵ پرگنه در هر میلی‌لیتر بود که ۱۲/۵۰ درصد از نمونه‌ها دارای آلودگی بیشتر از حد مجاز بودند. میانگین شمارش کپک و مخمر در نمونه‌های شیر ۷۰/۸ پرگنه در هر میلی‌لیتر بود که ۳/۸۰ درصد از نمونه‌ها دارای آلودگی بیشتر از حد مجاز بودند. دلیل پایین‌تر بودن آلودگی میکروبی نمونه‌های شیر در مطالعه انجام شده در شهر یزد نسبت به مطالعه حاضر احتمالا پاستوریزه بودن نمونه‌های شیر مورد استفاده در یزد می‌باشد.

نتایج ما همچنین نشان داد که میانگین تعداد یاخته‌های پیکری در نمونه‌های شیر خام جمع آوری شده از استان تهران، ۳×۱۰^{۵} سلول در هر میلی‌لیتر شیر بود. استاندارد ملی ایران (استاندارد ملی ایران، ۱۳۹۶) حد مجاز تعداد یاخته‌های پیکری برای شیر خام با درجه ممتاز، درجه یک، دو و سه را به ترتیب $۱۰^{۵}$، ۲×۱۰^{۵}، ۴×۱۰^{۵} و ۵×۱۰^{۵} معرفی کرده است. بنابراین نمونه دهای شیر خام مطالعه حاضر از نظر درجه کیفی جز شیرهای با کیفیت بین درجه یک و دو طبقه بندی می‌شوند. از طرفی غلظت آمیلوئید A در نمونه‌های شیر ارزیابی شده، ۴۷/۹۶±۵۵۱/۸۳ نانوگرم به ازای هر میلی‌لیتر شیر بود که نشان دهنده حضور میزان بالایی از پروتئین‌های فاز حاد در نمونه‌های شیر است.

Åkerstedt و همکاران در سال ۲۰۰۹ (Åkerstedt et al., 2009) با درنظر گرفتن تعداد ۱۹۵۰۰۰ سلول در هر میلی‌لیتر شیر برای یاخته‌های پیکری، میانگین غلظت آمیلوئید A شیر مخزن دامداری را ۱۱۲۰ نانو گرم در میلی‌لیتر اعلام نمودند. پیش از آن محققین یاد شده در سال ۲۰۰۷ میانگین غلظت آمیلوئید A را در نمونه‌های مثبت شیر مخزن دامداری ۲۰۰۰ نانو گرم در میلی‌لیتر گزارش کرده بودند. میانگین تعداد سلول‌های سوماتیک در نمونه‌های شیر مخزن دامداری در این مطالعه ۲۶۸۸۹۶ یاخته در هر میلی‌لیتر از شیر بود (Åkerstedt et al., 2007). Esmaeilzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۵ (Esmaeilzadeh et al., 2015) اقدام به مطالعه غلظت آمیلوئید A در شیر خام به عنوان یک پروتئین فاز حاد با ارزش بالا برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی گاو نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت آمیلوئید A در نمونه‌های شیر سالم (با تعداد یاخته‌های پیکری ۱۳/۹۴±۱۰۳/۱۱ سلول در هر میلی‌لیتر شیر) و شیر مبتلا به ورم پستان تحت بالینی (با تعداد یاخته‌های پیکری ۲۹۸/۰۱±۱۴۶۸/۱۰ سلول در هر میلی‌لیتر شیر) به ترتیب ۱۱۰±۶۸۰ و ۹۲۰±۶۵۰۰ نانو گرم در لیتر بود. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که افزایش در تعداد یاخته‌های پیکری سبب افزایش غلظت آمیلوئید A در نمونه‌های شیر شده است. Khoshvaghti و همکاران در سال ۲۰۰۷ (Khoshvaghti et al., 2007) اقدام به مطالعه تعیین ارزش تشخیصی آمیلوئید A در نمونه‌های شیر مبتلا به ورم پستان تحت بالینی نمودند. این محققان غلظت آمیلوئید A در نمونه‌های شیر سالم و شیر مبتلا به ورم پستان تحت بالینی را به ترتیب ۶۳/۰۶±۱۷۷/۴۳ و ۳۳/۱۲±۱۲۴/۷۵ ماکرو گرم در لیتر گزارش نمودند. این محققان حساسیت و ویژگی سنجش آمیلوئید A برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی را به ترتیب ۹۰ و ۷۳/۱ درصد گزارش نمودند.

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده در این مطالعه، نشان می‌دهد که کیفیت میکروبی برخی از نمونه‌های شیر عرضه شده در استان تهران قابل قبول است اما وجود *اشریشیا کلی*، کلی فرم، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر در نشان دهنده بروز یک مشکل عمده بهداشتی در مورد برخی از نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد که اقدامات لازم و موثری برای رعایت نکات بهداشتی در طول پروسه دوشش شیر و عرضه آن را می‌طلبد. با توجه به نتایج بدست آمده از این به نظر می‌رسد مطالعه آلودگی میکروبی شیر خام دریافتی در سکوهای دریافت شیر در کارخانجات نمی‌تواند به عنوان یک روش دقیق برای ارزیابی کیفی شیر استفاده شود. در این ارتباط استفاده از تعیین غلظت پروتئین‌های فاز حاد و خصوصا آمیلوئید A در شیر می‌تواند به عنوان یک روش دقیق برای ارزیابی کیفیت شیر از نظر وجود ورم پستان تحت بالینی مورد استفاده قرار گیرد. با این وجود مطالعات بیشتری برای تعیین دقت و صحت استفاده از آمیلوئید A در نمونه‌های شیر خام دریافتی در سکوی دریافت شیر نیاز می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مطالعه حاضر از تمامی همکاران و پرسنل زحمتکش بخش کلینیکال پاتولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و همچنین واحد کرج، کمال تشکر و قدردانی را دارند. مطالعه حاضر برگرفته از پایان نامه دکتری تخصصی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران می‌باشد. لذا از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. شماره ۱۰۱۵۴. ۱۳۸۶. شیر و فراورده های آن-شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی کپک و یا مخمر- شمارش کلنی در پلیت در دمای۲۵ درجه سانتی-گراد.

۲. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. شماره ۱۳۶۸. ۱۳۵۴. روش شمارش کلی میکروب‌ها در شیر.

۳. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. شماره ۱-۶۸۰۶. ۱۳۸۴. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام-شمارش استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت (*استافیلوکوکوس ارئوس* و سایر گونه ها)-روش آزمون-قسمت اول: روش استفاده از محیط کشت برد-پارکراگار.

۴. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. شماره ۲۴۰۶. ۱۳۹۵. میکروبیولوژی شیر و فراورده های آن - ویژگی ها و روش های آزمون شیر و فراورده های آن - ویژگی‌ها.

۵. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. شماره ۳۲۶. ۱۳۸۷. شیر و فراورده های آن- راهنمای نمونه برداری.

۶. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. شماره ۹۲۶۳. ۱۳۸۶. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- روش جامع برای شمارش کلی‌فرم ها- روش شمارش کلنی.

7. Agarwal, A., Awasthi, V., Dua, A., Ganguly, S., Garg, V., and Marwaha, S.S. 2012. Microbiological profile of milk: Impact of household practices. Ind J Publ Health. 56: 88.

8. Åkerstedt, M., Waller, K.P., and Åse, J. 2007. Haptoglobin and serum amyloid A in relation to the somatic cell count in quarter, cow composite and bulk tank milk samples. J Dairy Sci. 74: 198-203.

9. Akerstedt, M., Waller, K.P., and Sternesjö, A. 2009. Haptoglobin and serum amyloid A in bulk tank milk in relation to raw milk quality. J Dairy Sci. 76: 483-89.

10. Bogdanovičová, K., Vyletělová-Klimešová, M., Babák, V., Kalhotka, L., Koláčková, I., and Karpíšková, R. 2016.

Microbiological quality of raw milk in the Czech Republic. Czech J Food Sci. 34: 189–196.
11. Buchl,. NR., and Seiler, H. 2011. Yeasts and molds. Yeasts in milk and dairy products. Elsevier Ltd. pp. 744-753.
12. Jay, J.M., Loessner, M.J., and Golden, D.A. 2005. Modern food microbiology. 7th edition. Springer Science, New York, United States.
13. Khoshvaghti, A., Safi, S., Jafarzadeh, R., and Sohrabi Haghdoost, I. 2007. Determination of diagnostic value of amyloid A and serum and milk haptoglobin in subclinical mastitis in cow. Iran Vet Sci. 3: 623-30.
14. Crump, J.A., Sulka, A.C., Langer, A.J., Schaben, C., Crielly, A.S., Gage, R., Baysinger, M., Moll, M., Withers, G., and Denise M. 2002. An outbreak of Escherichia coli O157: H7 infections among visitors to a dairy farm. New Engl J Med. 347: 555-560.
15. Esmaeilzadeh, H., Safi, S., Shirazi Beheshtiha, S.H., and Sakha, M. 2015. Association between the concentration of milk Amyloid A and haptoglobin with electrophoretic pattern of cow milk serum proteins by SDS-PAGE in sub clinical mastitis due to the prevalent microbial agents in Iran. Large Anim Clin Res J. 7: 29-40.
16. Hill, B., Smythe, B., Lindsay, D., and Shepherd, J. 2012. Microbiology of raw milk in New Zealand', Int J Food Microbiol. 157: 305-08.
17. Hussein, H.A., El-Hamid Abd El, K.A., Gomaa Razik, A.M., Elbayoumy, M.K., Abdelrahman, K.A., and Hosein, H.I. 2018. Milk amyloid A as a biomarker for diagnosis of subclinical mastitis in cattle. Vet World. 11: 34.
18. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). No. 8923-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs - preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
19. Keshavarzpour, Z., Sami, M., Falahati, H., and Mohammadi, R. 2016. Bacterial and mold contamination of milk and dairy products distributed by traditional or commercial producers in Isfahan, Iran, in 2014. J Isfahan Med School. 34: 712-717.
20. Salari, M.H., Sharifi, M.R., Golzari, M.S., Sadrabadi, A.A., and Kafilian, M.H. 2007. Study the microbial contamination of milk and its products in Yazd province. J Fac Health Health Res Inst. 1: 37-43.
21. Moubasher, A.H., Abdel-Sater, M.A., and Soliman, Z.S.M. 2018. Yeasts and filamentous fungi associated with some dairy products in Egypt. J Mycol Med. 28: 76-86.
22. Pereira, P.C. 2014. Milk nutritional composition and its role in human health. Nutrition. 30: 619-27. Ranjbar, R., Safarpoor Dehkordi, F, Sakhaei Shahreza, M.H., Rahimi, E. 2018. Prevalence, identification of virulence factors, O-serogroups and antibiotic resistance properties of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* strains isolated from raw milk and traditional dairy products. Antimicrob Resist Infect Control. 7: 53.
23. Thompson-Crispi, K., Atalla, H., Miglior, F., and Mallard, B.A. 2014. Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics. Front Immunol. 5: 493.
24. Vithanage, N.R., Dissanayake, M., Bolge, G., Palombo, E.A., Yeager, T.R., Datta, N. 2017. Microbiological quality of raw milk attributable to prolonged refrigeration conditions. J Dairy Res. 84: 92-101.
25. Wang, W., Lin, X., Jiang, T., Peng, Z., Xu, J., Yi, L., Li, F., Fanning, S., Baloch, Z. 2018. Prevalence and Characterization of *Staphylococcus aureus* Cultured From Raw Milk Taken From Dairy Cows With Mastitis in Beijing, China. Front Microbiol. 9: 1123.

26. Wanjala W.N., Nduko, J.M., and Mwende M.C. 2018. Coliforms Contamination and Hygienic Status of Milk Chain in Emerging Economies. J Food Quality Hazards Control. 5: 3-10.

27. Yang, S.C., Lin, C.H., Aljuffali, I.A., and Fang, J.Y. 2017. Current pathogenic Escherichia coli foodborne outbreak cases and therapy development. Arch Microbiol. 199: 811-825.

28. Zolfaghari, M.R., Gaeini, R., Kalhor, N., Khalilian, M., Razavian, M.H., and Soleimani Sasani, M. 2012. Determination of microbial contamination of the milk and pasteurized dairy products produce in the Qom province. J Microbial World. 5: 47-57.

Study the total microbial load, coliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and mold and yeast and Amyloid a concentration in bulk milk samples from animal farms of Tehran Province

Taghdiri M[1], Karim G[2*], Safi S[1], Rahimi Foroushani A[3], Motalebi A[2]

1.Department of Pathobiology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2.Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3.Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

***Corresponding author:** Gkarim@ut.ac.ir

Received: 30 January 2019 Accepted: 30 April 2019

Abstract

Evaluation of the microbial quality of raw milk is very important due to the increasing consumption of milk and the possibility of its converting into dairy products. The study of microbial load of raw milk and the evaluation of acute phase proteins can provide accurate information on the hygienic conditions and quality of raw milk. The present study was done to evaluate the microbial load and amyloid a measurement in bulk milk samples of animal farms of Tehran province. At first, 90 raw milk samples were collected and transferred to the laboratory. Somatic cell count of milk samples was done by electronic fluorescence. Then, total microbial, coliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and mold and yeast counts were done. Amyloid A concentration in raw milk samples was determined using ELISA method. Mean count of total microbes, coliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and mold and yeast were 15×10^5, 12×10^4, 29×10^3, 14×10^3 and 18×10^5 CFU/ml, respectively. Total microbial count in 72.23% of tested samples was higher than limit standard. Mean of somatic cell count was 3×10^5 cells in milliliter milk which were higher than limit standard in 61.11% of milk samples. Mean and standard deviation of amyloid A in milk samples was 551.83 ±47.96 ng/ml milk. The results of the present study show the relative quality of milk samples of animal farms of Tehran province. High number of somatic cells and also the concentration of amyloid A in raw milk samples indicate the possibility of occurrence of subclinical mastitis in the target cows.

Keywords: Microbial load, raw milk, Amyloid A, Tehran province.