بررسی میزان آلودگی شیرهای خام شهر قم به استافیلوکوکوس اورئوس

فاطمه رحیمی باغی[۱]، راضیه نظری[۱*]، معصومه دورقی[۲]، مصطفی معین راد[۳]، رضا نجفی[٤]، ناصر کلهر[۱]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، گروه میکروبیولوژی، قم، ایران

۲. بخش میکرب‌شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، گروه میکروبیولوژی، زنجان، ایران

٤. بخش دامپزشکی، مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی قم، قم، ایران

* نویسنده مسئول، دانشکده علوم پایه Email: Nazari1102002@yahoo.com

چکیده

شیر محیط مناسبی برای رشد وتکثیر میکروارگانیسمی همچون استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد و رشد این میکروارگانیسم سبب به مخاطره افتادن بهداشت عمومی می‌گردد. در این مطالعه نمونه‌های شیرخام شهرستان قم از لحاظ آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه و آزمایش قرار گرفت. نمونه برداری در طی ۹ ماه از اسفند ۸۹ تا آبان ۹۰ از تعداد ۱۲۳ گاو از گاوداری‌های مناطق مختلف شهرستان قم انجام شد. بار میکربی هر نمونه شیر به طور جداگانه تعیین وسپس شیرها از لحاظ آلودگی با استافیلوکوکوس اورئوس مورد کشت و بررسی قرار گرفتند. میانگین بار میکربی ۱۲۳ نمونه شیر خام در طی این ۹ ماه ۲۱۹۸۰۷۹ بود. در بین ۱۲۳ نمونه شیر خام، ۲٦ نمونه (۲۱/۱٪) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند که از این تعداد ۹ نمونه (۷/۳۱٪) کوآگولاز مثبت و ۱۷ نمونه (۱۳/۸۲٪) کوآگولاز منفی بودند. همچنین از ۲٦ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده، ۱۲ نمونه (۹/۷۵٪) DNAase مثبت بودند.

کلمات کلیدی

استافیلوکوکوس اورئوس، شیرخام، ورم پستان

مقدمه

شیر محیط مناسبی برای رشد و تکثیر انواع میکروارگانیسم‌ها مانند استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد و رشد این میکروارگانیسم سبب به مخاطره افتادن بهداشت عمومی جامعه می‌گردد زیرا این باکتری عامل طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها نظیر اندوکاردیت، منتژیت، سندرم شوک سمی و مسمومیت غذایی در انسان می‌باشد (Oktavia et al 2004).

استافیلوکوکوس اورئوس در سرتاسر دنیا بعنوان یکی از عوامل اصلی ایجادکننده التهاب چرکین پستان گاو (mastitis) شناخته شده است و از این رو در

میکربیولوژی اهمیت بسیار زیادی دارد. در دام مبتلا به بیماری التهاب چرکین پستان گاو استافیلوکوکی، استافیلوکوکوس اورئوس از پستان آلوده به شیر راه یافته و سبب آلودگی شیر و فرآورده‌های آن شده و سلامت محصولات لبنی و مصرف‌کنندگان آن را تهدید می‌کند (Ahmadi et al 2010). مسمومیت غذائی استافیلوکوکی یکی از مهمترین بیماری‌هایی است که در اثر مصرف مواد غذایی آلوده ایجاد می‌گردد. این بیماری که بیشترین موارد مسمومیت غذائی باکتریایی را تشکیل می‌دهد دوره نهفتگی ۱ تا ٦ ساعت داشته و مهمترین علائم آن دل درد، تهوع، استفراغ، گرفتگی عضلات و سردرد است (Ercolini et al 2004). همچنین این باکتری در هنگام شیردوشی از طریق چنگک دستگاه شیردوشی و دست کارگر شیردوش از پستان آلوده به پستان‌های غیرآلوده و گاوهای سالم سرایت می‌کند. کنترل ورم پستان استافیلوکوکوس اورئوس با درمان آنتی‌بیوتیکی به تنهایی امکان‌پذیر نیست زیرا درمان آنتی‌بیوتیکی با روش‌های معمول در دوره شیرآوری فایده کمی دارد و فقط ۱۰ تا ۳۰٪ پستان‌های آلوده ممکن است در این دوره درمان شوند. تجویز داروها ممکن است به طور موقتی تعداد سلول‌های سوماتیک شیر را کاهش دهد و شیر پستان آلوده ظاهراً کیفیتی مناسب پیدا کند، اما باکتری را در پستان از بین نمی‌برد، زیرا دیواره‌ای از بافت اسکار در اطراف این باکتری ایجاد می‌شود و باکتری را از تأثیر آنتی‌بیوتیک محافظت می‌کند (Motta et al 2001). استافیلوکوکوس اورئوس همچنین ممکن است نسبت به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دهد و آنزیمهایی ترشح کند که پنی‌سیلین را غیرفعال نماید. بنابراین کنترل این بیماری از طریق پیشگیری از گسترش عفونت از پستان‌های آلوده به پستان‌های سالم از طریق بهداشت مناسب در زمان شیردوشی، شناسایی و حذف گاوهای مبتلا به التهاب چرکین پستان اهمیت بسیار زیادی در افزایش سلامت شیر و محصولات لبنی دارد (Momtaz et al 2010).

هدف از این مطالعه بررسی شیرهای خام شهرستان قم از لحاظ آلودگی به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: ۱۲۳ نمونه شیر خام از ۱۲۳ گاو در طی ٤ فصل از زمستان ۸۹ تا پاییز ۹۰ از دامداریهای صنعتی مناطق مختلف شهرستان قم به طور تصادفی جمع‌آوری شد. پس از شستشو پستان گاو، حدوداً ۵۰ میلی‌لیتر شیر در ظرف استریل از گاو دوشیده شده و سریعا به آزمایشگاه میکروب‌شناسی پژوهشی دانشگاه آزاد قم جهت انجام آزمایشات انتقال یافت.

تعیین بار میکروبی شیر: برای این منظور ابتدا رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-6} از شیر تهیه شد. سپس از هر رقت ۱ میلی لیتر در پلیت خالی استریل ریخته شده و با نوترینت آگار مذاب که به دمای ٤٥ درجه سانتی گراد رسیده بود پورپلیت گردید. سپس پلیت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفته و بعد از این مدت شمارش کلنی انجام و بار میکروبی هر نمونه شیر به طور جداگانه تعیین شد.

کشت و جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌های شیر: برای جداسازی استافیلوکوکوس

اورئوس (در صورت وجود) از نمونه شیر، ابتدا مقدار ۰/۱میلی لیتر از هر شیر به طور جداگانه تحت شرایط کاملاً استریل بر روی محیط بلادآگار کشت انبوه داده شد. سپس پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲٤ ساعت گرما گذاری گردید. در مرحله بعد کلنی‌هایی که در این محیط، ایجاد همولیز بتا کرده و ترجیحاً پیگمان زرد طلایی داشتند انتخاب و جهت بررسی‌های بیشتر مورد استفاده قرار گرفت.

پس از رنگ آمیزی گرم از کلنی‌ها با همولیز بتا و پیگمان زرد طلایی، کلنی‌های کوکسی گرم مثبت و آرایش خوشه‌ای انتخاب و خالص‌سازی گردیدند. در مرحله بعد برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس از تست‌های افتراقی استفاده گردید. برای این منظور از تست‌های کاتالاز، اکسیداز، تحمل نمک ۱۰٪ و ۱۵٪، تست احیای نیترات (INM)، محیط مانیتول سالت آگار (MSA)، تجزیه قند گلوکز در شرایط هوازی و بیهوازی، DNAase و در نهایت کوآگولاز استفاده شد.

شناسایی مولکولی استافیلوکوکوس اورئوس‌های جداشده از نمونه‌های شیر: جهت شناسایی مولکولی استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از نمونه‌های شیر، از روش PCR برای ژن 23srRNA استفاده شد. برای این منظور استافیلوکوکوس اورئوس‌های جداشده جهت استخراج DNA ژنومیک در محیط LB broth کشت و به مدت ٥-٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند. جهت استخراج DNA ژنومیک از کیت استخراج DNA شرکت Roche استفاده شد. واکنش PCR برای تکثیر ژن 23srRNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن (جدول ۱)، ژنوم استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از شیر همراه با سایر مواد واکنش انجام شد (جدول ۲).

جدول ۱. توالی پرایمرهای ژن23srRNA مورد استفاده در واکنش PCR

Name	Sequence
23srRNA F	5´ ACG GAG TTA CAA AGG ACG AC 3´
23srRNA R	5´ AGC TCA GCC TTA ACG AGT AC 3´

جدول۲. مواد واکنش PCR

ماده	نمونه	کنترل منفی
PCR Buffer	21.5µl	21.5µl
Forward primer	1µl	1µl
Reverse primer	1µl	1µl
DNA	15ng	0
H_2O	0	1µl
(Taq DNA Polymerase 5Unit/µl)	0.25µl	0.25µl

در ضمن واکنش PCR به همراه کنترل مثبت و کنترل منفی مطابق شرایط جدول ۲ انجام گرفت. برای کنترل مثبت واکنش PCR از نمونه DNA استخراج شده از سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 استفاده شد. برای کنترل منفی واکنش PCR از تمامی اجزاء واکنش PCR استفاده شد ولی فقط به جای DNA ژنومیک از آب مقطر در این واکنش استفاده گردید. واکنش PCR به صورت باز شدن اولیه در ۹٤°C به مدت ۳ دقیقه، باز شدن در ۹٤°C به مدت ۱ دقیقه، اتصال در ٦٥°C به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در ۷۲°C به مدت ۱ دقیقه به صورت ۳۲ سیکل و طویل شدن نهایی در ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. پس از اتمام واکنش PCR، جهت بررسی کیفی محصول PCR، ۵ میکرولیتر از محصول واکنش PCR به همراه ۵ میکرولیتر لودینگ بافر بر روی ژل آگاروز ۰/۸٪ و در کنار مارکر استاندارد با ولتاژ ۸۰ ولت الکتروفورز گردید.

جدول ۳- توزیع نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از هر دامداری

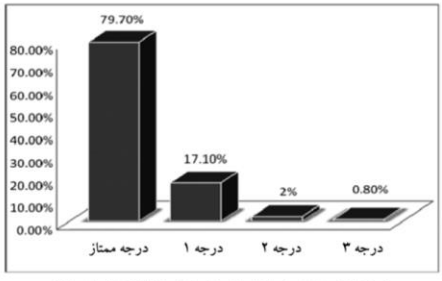
دامداری	تعداد نمونه
دامداری ۱	۳۰
دامداری ۲	۳۰
دامداری ۳	۳۰
دامداری ۴	۳۳

نتایج

نمونه‌های جمع‌آوری شده: در این تحقیق ۱۲۳ نمونه شیر خام از ۱۲۳ گاو مختلف از ٤ دامداری شهر قم به طور تصادفی جمع‌آوری شد. جدول ۱ نحوه توزیع نمونه‌های جمع‌آوری شده از هر دامداری را نشان می‌دهد.

تعیین بار میکربی شیر: بر اساس استاندارد میکربی شیر ایران، نمونه‌های شیر خام از لحاظ بار میکربی درجه بندی شده و به ٤ درجه ممتاز، درجه ۱، درجه ۲ و درجه ۳ تقسیم‌بندی می‌گردند. بر اساس این استاندارد چنانچه بار میکربی شیر خام کمتر از ۳×۱۰^{٤} باشد شیر خام ممتاز، چنانچه بار میکربی شیر خام ۳×۱۰^{٤} تا ۱×۱۰^{٥} باشد شیر درجه ۱، اگر بار میکربی شیر خام ۱×۱۰^{٥} تا ۵×۱۰^{٥} باشد شیر درجه۲ و چنانچه بار میکربی شیر خام ۵×۱۰^{٥} تا ۱×۱۰^{٦} باشد شیر درجه۳ می‌باشد.

در این تحقیق از ۱۲۳ نمونه شیر خام مورد بررسی با تعیین بار میکربی نمونه‌ها مشخص شد که ۷۹/۷٪ نمونه‌ها درجه ممتاز، ۱۷/۱٪ نمونه‌ها درجه ۱ و ۲٪ نمونه‌ها درجه ۲ و ۰/۸٪ نمونه‌ها درجه ۳ بودند (نمودار ۱). میانگین بار میکربی این نمونه‌ها ۲۱۹۸۰۷۹ و انحراف معیار ٦۱۰۵۳/۷۳۸ است.

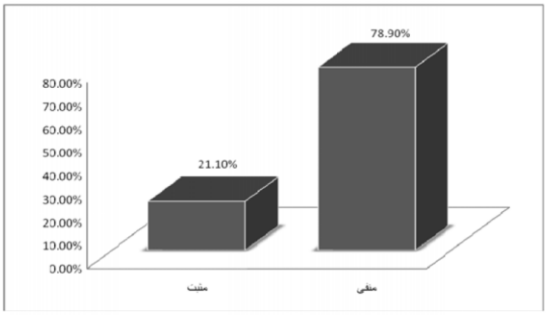


نمودار ۱: درجه‌بندی نمونه‌های شیر خام براساس استاندارد ملی شیر ایران

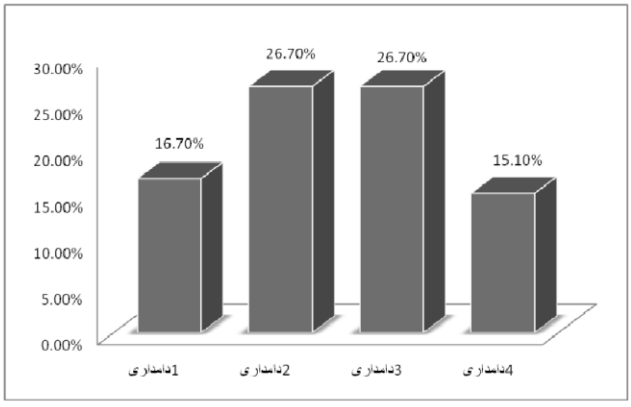
نتایج مربوط به استافیلوکوکوس اورئوسهای جدا شده

پس از کشت نمونه‌های شیر در محیط بلاد آگار، کلنی‌هایی که در محیط بلاد آگار همولیز بتا ایجاد کرده و در رنگ آمیزی گرم به صورت کوکسی‌های گرم مثبت با آرایش خوشه‌ای بودند، در مرحله اول به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس در نظر گرفته شدند. در مرحله بعد، با انجام تست کاتالاز و اکسیداز نمونه‌های کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی انتخاب شدند. نمونه‌هایی که در محیط‌های افتراقی نتایج گلوکز هوازی مثبت، گلوکز بی‌هوازی مثبت، مانیتول سالت آگار مثبت، نمک ۱۰ درصد مثبت، نمک ۱۵ درصد مثبت و احیاء نیترات مثبت را داشتند به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شدند.

از مجموع ۱۲۳ نمونه شیر خام استفاده شده در این تحقیق، ۲۶ نمونه (۲۱/۱۰ درصد نمونه‌ها) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند و ۹۷ نمونه (۷۸/۹ درصد نمونه‌ها) فاقد آلودگی به این باکتری بودند (نمودار۲). نتایج تست کوآگولاز نشان داد که از مجموع ۲۶ استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده، ۹ سویه کوآگولاز مثبت بودند. نتایج تست DNAase نشان داد که از مجموع ۲۶ استافیلوکوکوس اورئوس‌های جداشده، ۱۲سویه DNAase مثبت بودند.



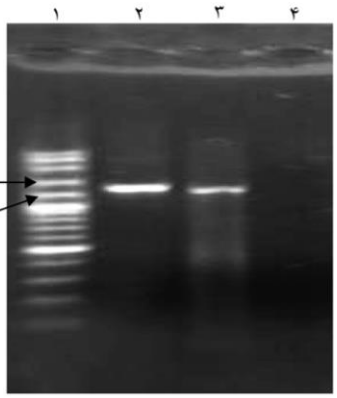
نمودار۲. فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های شیر خام مورد بررسی



نمودار ۳: درصد آلودگی دامداری‌های مورد بررسی به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

نتایج PCR

پس از تخلیص DNA ژنومیک برای کلیه نمونه‌ها، PCR برای ژن 23srRNA انجام شد. ژن23srRNA اختصاصی گونه استافیلوکوکوس اورئوس بوده و در صورتی که در یک نمونه جدا شده PCR این ژن مثبت گردد، تأییدکننده گونه استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد. بر اساس پرایمرهای طراحی شده جهت این ژن انتظار می‌رود تا در اثر تکثیر این ژن باند ۱۲۵۰ جفت بازی در واکنش PCR ایجاد گردد. نتایج واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای ژن 23srRNA روی نمونه‌های جداشده از شیر نشان داد که تمام ۲۶ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جداشده واجد این ژن و باند ۱۲۵۰ جفت بازی در واکنش PCR بودند که این نتیجه تأییدکننده استافیلوکوکوس اورئوس‌های جداشده از شیر می‌باشد (شکل ۱).



شکل۱. نتایج PCR ژن 23srRNA. ستون ۱ مارکر 100bp، ستون ۲ کنترل مثبت، ستون ۳ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از نمونه‌های شیر واجد ژن 23srRNA ، ستون ۴ کنترل منفی

بحث و نتیجه‌گیری

در بین مواد غذایی مختلف، ترکیبات شیر یک محیط ایده‌آل را برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌آورد. استافیلوکوکوس اورئوس یکی از سه عامل مهم مسمومیت غذایی در جهان است که به طور گسترده‌ای در طبیعت موجود می‌باشد و در فرآورده های غذایی که منشاء حیوانی داشته و یا به طور مستقیم با اعضای انسانی سروکار دارند با احتمال زیاد دیده می‌شود (Rall et al 2008). بیماری ورم پستان (ماستیتیس) از جمله متداول‌ترین بیماری‌های دامی است که معمولاً در اثر عفونت باکتریایی به وجود می‌آید و مقدار باکتریهای شیر خام در حضور این بیماری افزایش خواهد یافت. بیماری ماستیتیس ضایعات اقتصادی قابل توجهی را در اثر کاهش بازده شیر به دنبال دارد (Ahmadi et al 2010). عوامل عمده ایجادکننده این بیماری استرپتوکوکوس آگالاکتیا، استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیا، استرپتوکوکوس یوبریس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی می‌باشند. اما ورم پستان استافیلوکوکی برای انسان مخاطره‌انگیزتر است چون استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند در دمای ۴۸-۱۰ درجه سانتی‌گراد وقتی که تعداد این باکتری به 10^{6}-10^{5} در هر میلی‌لیتر برسد تولید انتروتوکسین کند. انتروتوکسین‌های ایجاد شده

نسبت به حرارت مقاوم هستند و حتی در دمای استریلیزاسیون نیز از بین نمی‌روند (Pawsey 2002). توکسین تولید شده حتی می‌تواند در فرآورده‌های بعدی شیر مانند پنیر باقی بماند و سبب اسهال، استفراغ و دل درد گردد. در حال حاضر روش تشخیصی آلودگی شیر با استافیلوکوکوس اورئوس، کشت در محیط آزمایشگاه است که به عنوان استاندارد طلائی مطرح است (Phuektes et al 2001).

در این تحقیق از ۱۲۳ نمونه شیر خام که از دامداری‌های مختلف شهرستان قم جمع‌آوری شد ۲٦ نمونه (۲۱/۱٪) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند. همچنین تعیین بار میکربی نمونه‌های شیر خام مورد بررسی و مقایسه آن با استاندارد میکربی شیر ایران، نشان داد که ۷۹/۷٪ نمونه‌ها درجه ممتاز، ۱۷/۱٪ نمونه‌ها درجه ۱ و ۲٪ نمونه‌ها درجه ۲ و ۰/۸٪ نمونه‌ها درجه ۳ بودند. نتایج تست کوآگولاز نشان داد که از مجموع ۲٦ استافیلوکوکوس اورئوسهای جدا شده، ۹ سویه کوآگولاز مثبت بودند. بنابراین این سویه‌ها به عنوان انواع بیماریزا، پتانسیل ایجاد انواع بیماری‌های استافیلوکوکی را خواهند داشت. نتایج تست DNAase نشان داد که از مجموع ۲٦ استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده، ۱۲ سویه DNAase مثبت بودند. از آن‌جایی که تولید DNAase با تولید انتروتوکسین هم ارز می‌باشد، بنابراین این سویه‌ها به عنوان سویه‌های مولد انتروتوکسین بوده و می‌توانند شیر را در معرض خطر آلودگی با انتروتوکسین و ایجاد مسمومیت غذایی در مصرف کنندگان آن قرار دهند، زیرا انتروتوکسین‌ها مقاوم به حرارت بوده و در دماهای پاستوریزاسیون غیرفعال نمی‌گردند. قربانپور و همکارانش در سال ۲۰۰۵ در اهواز ۱۲۰نمونه شیرخام را جمع‌آوری و از لحاظ آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس با روش کشت مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ۲۰/۸٪ نمونه‌های شیر بررسی شده در شهر اهواز آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند (Ghorbanpoor et al. 2007).

از آنجائی که در تحقیق حاضر ۲۱/۱٪ نمونه‌ها آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند و در تحقیق قربانپور و همکارانش ۲۰/۸٪ نمونه‌ها آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس گزارش شدند، مقایسه نتایج نشان می‌دهد که میزان آلودگی شیرهای شهر قم و شهر اهواز از لحاظ آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس تقریبا مشابه است. قره گوزلو و همکارانش در مطالعه‌ای بر روی گاوداری‌های صنعتی شهرستان کرج به روش کشت، میزان آلودگی استافیلوکوکوس اورئوسی شیر را در جمعیت مورد مطالعه ٥٦/۲٪ اعلام کردند (Ghragozloo et al. 2001). از آنجایی که در تحقیق حاضر۲۱/۱٪ نمونه‌ها آلوده به استافیلوکوکوس‌اورئوس بودند و در تحقیق قره گوزلو وهمکارانش٥٦/۲٪ نمونه‌ها آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس گزارش شدند، مقایسه نتایج نشان می‌دهد که میزان آلودگی شیرهای شهر قم نسبت به شیرهای مورد مطالعه در شهر کرج از لحاظ آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس کمتر است.

در سال ۲۰۱۰، Mounir و همکارانش ۱۲۰ نمونه شیر دامداری‌های نواحی مختلف دلتا مصر را جمع‌آوری و مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ۱٤/۹٪ نمونه‌ها حاوی استافیلوکوکوس اورئوس بودند (Mounir et al. 2010). مقایسه نتایج تحقیق حاضر نشان داد که درصد آلودگی شیرهای شهر قم به استافیلوکوکوس اورئوس ۲۱/۱٪ است که نسبت به ناحیه دلتا مصر که ۱٤/۹٪ گزارش شده است، بیشتر می‌باشد.

منابع

1. Oktavia S, Khusnan L, Zschock M. Comparative studies on pheno-and genotypic properties of *staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in central Java in Indonesia and Hesse in Germany. Journal of Veterinary Science 2004:5(2): 103-109.

2. Ahmadi M, Rohani M, Ayremlou N. Detection of *staphylococcus aureus* in milk by PCR. Comp Clin Pathology 2010:19: 91-94.

3. Ercolini D, Blaiotta G, Fusco V, Coppola S. PCR based detection enterotoxigenic *staphylococcus aureus* in the early stages of raw milk cheese making. Journal of Applied Microbiology 2004:6: 1090-1096.

4. Motta O, Folly M, Sakyiama C. Detection of different *staphylococcus aureus* strains in bovine milk from subclinical mastitis using PCR and routine techniques. Brazilian Journal Microbiology 2001:32: 27-31.

5. Momtaz H, Rahimi E, Tajbakhsh E. Detection of some virulence factors in *staphylococcus aureus* isolated from clinical and subclinical bovin mastitis in Iran. African Journal of Biotechnology 2010: 3753-3758.

6. Rall VL, Vieira F, Rall R, Vieitis R, Fernandes J. PCR detection of staphylococcal enterotoxin genes in *staphylococcus aureus* strains isolated from raw and pasteurized milk. Veterinary Microbiology 2008:132: 408-413.

7. Pawsey R. Case studies in food microbiology for food safety and quality.Royal society of chemistry(RSC) 2002: 113-119.

8. Phuektes P, Mansoll P, Browning F. Multiplex polymerase chain reactin assay for simultaneous detection of *staphylococcus aureus* and streptococcal causes of bovine mastitis. Journal of veterinary Science 2001:5(2): 178-180.

9. Ghorbanpoor M, shapouri M, Moatamedi H , Jamshidian M, Gooraninejad S. Comparison of PCR and bacterial culture methods for diagnosis of dairy cattles subclinical mastitis caused by *staphylococcus aureus*. Veterinary research journal 2005:62: 87-91.

10. Gharagozlo F, Vojgani M, Erfanmanesh A, Bahonar A. Mastitis control by bacteriological monitoring and somatic cell count(scc) in dairy farms around karadj. Proceedings of the 1st milkindustry meeting 2001: 302-308.

11. Mounir M, Salem B, Muharram M, Ibrahim M, A.lhosiny M, Ehab S. Molecular Detection of Genes Encoding Virulence Determinants in *staphylococcus aureus* Strains Isolated from Bovine Mastitis. Journal of Applied Sciences Research 2010: 6(2): 121-128.

Prevalence of *Staphylococcus aureus* in raw milks of Qom

Rahimi baghi F[1], Nazari R[1*], Douraghi M[2], Moein Rad M[3], Najafi R[4], Kalhor N[1]

1. Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.
2. Division of Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences.
3. Department of Microbiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.
4. Veterinary of Division, Agricultural Jihad Research Center, Qom, Iran.

*Corresponding author: Razieh Nazari, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran. Email: Nazari1102002@yahoo.com

Abstract:

Milk is considered a nutritious food because it contains several important nutrients including proteins and vitamins. Conversely, it can be a vehicle for several pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus*. In this study, 123 milk samples of 123 cows from four farms of different geographic locations in Qom were collected from March until November 2011. The samples were cultured on Blood agar and bacteria were identified by standard methods. On the basis of cultural and biochemical properties, 26 *Staphylococcus aureus* isolates obtained from 123 milk samples. Among a 26 isolates, 9 isolates (7.31%) were positive coagulase and 12 isolates (9.75%) were positive DNAase.

Key words:

Mastitis; Raw milk; *Staphylococcus aureus*