



## شیوع استرپتوکوکوس آگالاکتیه در عفونت‌های تحت بالینی پستان در مزارع شیری شهرستان نیشابور

علی اکبر طوسی<sup>۱</sup>، محسن نجیمی<sup>۲\*</sup>، محمد جواد بهزادی شهر بابک<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته دکترای عمومی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۲۷ خرداد ۱۴۰۲، بازنگری: ۳۰ خرداد ۱۴۰۲، پذیرش نهایی: ۰۵ تیر ۱۴۰۲



10.22034/nfvm.2023.402704.1190

### چکیده

**چکیده:** ورم پستان ناشی از استرپتوکوکوس آگالاکتیه همچنان یکی از مشکلات مهم بهداشتی و اقتصادی صنعت گاو شیری در در بسیاری از مناطق دنیا به‌شمار می‌رود. هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی میزان شیوع عفونت استرپتوکوکوس آگالاکتیه در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی در گله‌های شیری شهرستان نیشابور بود. تعداد ۵۰۰ رأس گاو از ۱۳ گله‌ی شیری در سطح شهرستان نیشابور وارد مطالعه شدند. نمونه شیر از تمام کارتیه‌ها گرفته شد و از نظر ابتلا به ورم پستان تحت بالینی با استفاده از آزمون ورم پستان کالیفرنایی ارزیابی گردیدند. سپس از کارتیه‌هایی که در آزمون ورم پستان کالیفرنایی مثبت بودند مجدداً نمونه‌گیری شد و با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز از نظر آلودگی به استرپتوکوکوس آگالاکتیه بررسی شدند. از مجموع ۲۰۰۰ کارتیه بررسی شده ۱۱۵ کارتیه (۵/۷ درصد) متعلق به ۸۸ گاو (۱۷/۶ درصد) مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بودند. آلودگی به استرپتوکوکوس آگالاکتیه در ۳۰/۶ درصد گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی یافته شد. بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر استرپتوکوکوس آگالاکتیه بخش قابل توجهی از عفونت‌های تحت بالینی پستان در مزارع شیری شهرستان نیشابور را شامل می‌شود.

**واژگان کلیدی:** استرپتوکوکوس آگالاکتیه، تست ورم پستان کالیفرنایی، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

## مقدمه

ورم پستان التهاب یک یا چند کاتیهای گاوهای شیری است که با تأثیرات منفی بر کیفیت و کمیت شیر و همچنین سلامت حیوان، خسارت اقتصادی قابل توجهی را به دامدار تحمیل می‌کند. اگر التهاب پستان همراه با علائم بالینی باشد به‌عنوان ورم پستان بالینی در نظر گرفته می‌شود، در صورتی که به دنبال عفونت پستانی فقط شمارش سلول‌های سوماتیک شیر (SCC) افزایش می‌یابد و هیچ علامت بالینی وجود نداشته باشد به‌عنوان ورم پستان تحت بالینی اطلاق می‌گردد (۱). ورم پستان تحت بالینی بدون آن که در گله دیده شود تولید شیر را کاهش می‌دهد ضمن اینکه کاتیهای مبتلا به عفونت تحت بالینی می‌تواند منبع عفونت برای سایر گاوهای گله باشد (۲). یکی از شایع‌ترین پاتوژن‌های عامل ورم پستان تحت بالینی استریپتوکوکوس آگالاکتیه است (۳). این ارگانسیم یک پاتوژن مسری است که در گذشته به‌عنوان انگل اجباری پستان گاو شناخته می‌شده است، به این معنی که نمی‌تواند به مدت طولانی خارج از غده پستانی زنده بماند (۴). اما امروزه ثابت شده است که این ارگانسیم می‌تواند در محیط خارج از پستان هم زنده بماند (۵). علیرغم برنامه‌های ریشه‌کنی متعدد، استریپتوکوکوس آگالاکتیه همچنان یک عامل رایج عفونت پستانی گاو است (۶). تشخیص ورم پستان تحت بالینی در گله‌های شیری و همچنین یافتن عامل آن برای کنترل و درمان ورم پستان ضرورت دارد (۲). هدف از این مطالعه بررسی شیوع ورم پستان تحت بالینی در گله‌های شیری شهرستان نیشابور و همچنین بررسی شیوع استریپتوکوکوس آگالاکتیه در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی در این شهرستان است.

## مواد و روش‌ها

**آزمون ورم پستان کالیفرنایی:** در این مطالعه تعداد ۵۰۰ رأس گاو شیری متعلق به ۱۳ گله از سطح شهرستان نیشابور وارد مطالعه شدند. برای بررسی از لحاظ ابتلا به ورم پستان تحت بالینی به‌وسیله آزمون ورم پستان کالیفرنایی

(CMT) از هر ۴ کاتیه تمام گاوها (۲۰۰۰ کاتیه) نمونه شیر گرفته شد. نمونه‌گیری در دوشش ظهر و پس از شستشو، خشک کردن و رگ‌زنی کاتیه‌ها و قبل از اتصال خرچنگی ماشین شیردوش انجام می‌شد. پس از دور ریختن دوشش اول، دوشش سوم در گوده‌های ظرف مخصوص CMT دوشیده می‌شد. سپس هم حجم نمونه معرف CMT (California mastitis testing liquid.KERBL، شرکت کربل، آلمان) به شیر افزوده و با حرکت دادن ظرف هم زده می‌شد. پس از گذشت ۳۰ ثانیه از افزودن معرف، بر اساس میزان لخته شدن ترکیب نتیجه آزمون قرائت می‌شد. طبق مطالعه Kandeel و همکاران بر حسب میزان تشکیل توده ژله‌ای و شکل و قوام آن نتیجه آزمایش منفی (-)، ناچیز (Trace)، یک مثبت (+)، دو مثبت (++) و سه مثبت (+++) ارزیابی می‌شد. هر سه نتیجه‌ی +، ++ و +++ نشانه‌ی ابتلای کاتیه به ورم پستان تحت بالینی در نظر گرفته می‌شد و هر گاو که حداقل یکی از کاتیه‌های آن در آزمون CMT مثبت بود به‌عنوان مبتلا به ورم پستان تحت بالینی محسوب می‌شد.

**آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR):**

کاتیه‌هایی که در آزمون CMT مبتلا به ورم پستان تحت بالینی مشخص شدند به منظور ردیابی ارگانسیم استریپتوکوکوس آگالاکتیه در شیر مورد نمونه‌گیری مجدد قرار گرفتند. گاوهایی که بیش از یک کاتیه CMT مثبت داشتند، شیر همه کاتیه‌های درگیر با هم مخلوط و فقط یک نمونه از گاو تهیه شد. پس از ضد عفونی نوک سرپستانک با استفاده از پنبه الکل، ۱۰ میلی‌لیتر شیر درون لوله فالتون دوشیده می‌شد. نمونه‌های شیر تا زمان انجام آزمایش درون فریزر با دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از روش جوشاندن انجام شد. حجم ۱ میلی‌لیتر از نمونه شیر با رعایت شرایط استریل به میکروتیوب منتقل و با دور ۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از دور ریختن مایع رویی، ۱ میلی‌لیتر بافر TRIS EDTA به آن افزوده و ورتکس شد و مجدداً مورد سانتریفیوژ قرار گرفت. مایع رویی دور ریخته شد و

محلول DNA استخراج شده، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای Forward و Reverse، ۸ میکرولیتر mastermix و ۴ میکرولیتر آب مقطر استریل تهیه شد و طبق مراحلی که در جدول ۲ آمده درون دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت. پس از انجام PCR، ۵ میکرولیتر از محصول واکنش روی ژل آگارز ۲ درصد حاوی ۱ میکرولیتر رنگ Safe stain به مدت ۸۰ دقیقه تحت تأثیر ولتاژ ۸۰ ولت الکتروفورز شد.

۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل به آن افزوده و ورتکس شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵°C قرار گرفت. مجدداً محلول با دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع رویی که حاوی DNA بود با رعایت شرایط استریل به میکروتیوب جدید منتقل شد. سپس از پرایمرهای اختصاصی (شرکت پیشگام) که توالی آن در جدول ۱ آمده برای PCR استفاده شد. مخلوط PCR از ۲ میکرولیتر

جدول ۱ - توالی پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های شیر

Target	Oligonucleotide	Sequence (5'-3')	product size (bp)
<i>Streptococcus agalactia</i>	STRA-AgI (F <sup>+</sup> )	TTTGGTGTTTACTACTAGACTG	120
	STRA-AgII (R <sup>+</sup> )	TGTGTTAATTACTCTTATGCG	
	F: forward	R: reverse	

جدول ۲ - مراحل انجام PCR

94 °C	300 sec	واسرشتگی اولیه
94 °C	30 sec	واسرشتگی
54 °C	45 sec	اتصال پرایمر به DNA
72 °C	45 sec	طویل شدن رشته الگو
72 °C	300 sec	طویل شدن نهایی

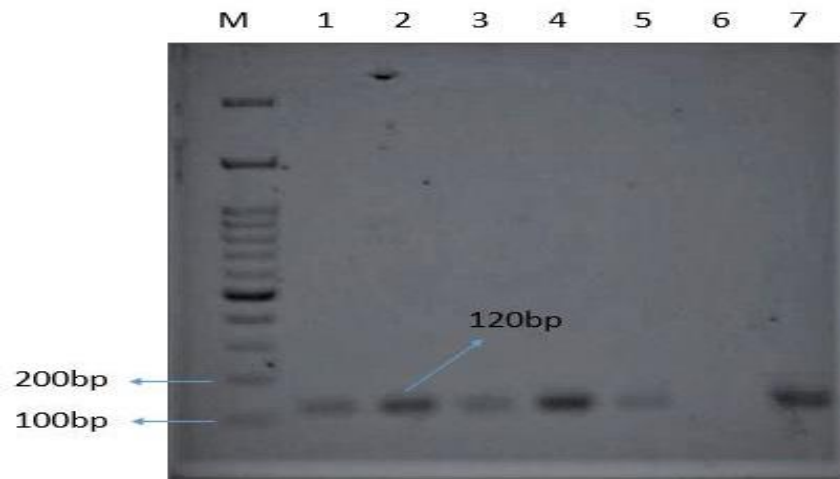
به گونه‌ای که حداقل و حداکثر میزان وقوع ورم پستان تحت‌بالینی در گله‌ها به ترتیب ۱۲/۵ و ۳۵ درصد بود. بر اساس نتایج آزمون PCR، باکتری استریتوکوکوس آگالاکتیه در ۲۷ نمونه‌ی شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی (۳۰/۶ درصد) شناسایی شد.

## نتایج

بر اساس نتایج آزمون CMT (جدول ۳) از مجموع ۲۰۰۰ کارتیه بررسی شده ۱۱۵ کارتیه (۵/۷ درصد) متعلق به ۸۸ رأس گاو (۱۷/۶ درصد) مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی تشخیص داده شدند. در تمام گله‌های مطالعه شده گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی وجود داشت

جدول ۳ - نتیجه آزمون CMT در گاوهای مطالعه شده

تعداد کارتیه (درصد)	
(۹۳/۸) ۱۸۷۶	منفی
(۰/۴۵) ۹	ناچیز
(۱/۹) ۳۸	یک مثبت
(۲/۰۵) ۴۱	دو مثبت
(۱/۵) ۳۶	سه مثبت
۲۰۰۰	مجموع



شکل ۱- ستون M مارکر از 100 جفت باز تا 3000 جفت باز می‌باشد. ستون شماره ۶ کنترل منفی و ستون شماره ۷ کنترل مثبت، وزن باند ۱۲۰ bp

### بحث و نتیجه‌گیری

میزان وقوع ورم پستان تحت‌بالینی در گله‌های شیری شهرستان نیشابور در سطح کارتیه ۵/۷ درصد و در سطح گاو ۱۷/۶ درصد بود. مرور سیستماتیک ۴۱ مطالعه، شیوع کلی ورم پستان تحت‌بالینی را در سطح گاوهای کشور چین از سال ۲۰۱۲ تا ۲۰۲۱، ۳۷/۷ درصد محاسبه کرد. در این مطالعه‌ی فراتحلیلی کمترین و بیشترین میزان وقوع ورم پستان تحت‌بالینی به ترتیب ۱۹ درصد و ۷۲ درصد مربوط به دو استان از کشور چین بوده است (۷). میزان وقوع ورم پستان تحت‌بالینی در شهرستان نیشابور نزدیک به حداقل میزان گزارش شده در مطالعه اخیر مربوط به یکی از استان‌های چین است. در مطالعه Ranasinghe و همکاران میزان وقوع ورم پستان تحت‌بالینی بر اساس آزمون CMT در سطح گاوهای سه منطقه از کشور سریلانکا ۵۷/۵، ۱۱/۸ و ۴۵/۵ درصد بود (۸). Demil و همکاران میزان ورم پستان تحت‌بالینی را در اتیوپی در سطح کارتیه ۳۲/۷ درصد و در سطح گاو ۶۰/۱ درصد گزارش کردند (۹).

مطالعاتی که در ایران انجام شده میزان وقوع ورم پستان تحت‌بالینی را در سطح گاو ۳۳/۲ درصد در سمنان (۱۰)، ۳۳/۷ درصد در اصفهان (۱۱)، درصد در استان فارس (۱۲)، ۲۶/۶ درصد در استان گلستان (۱۳)، ۲۰/۸ درصد در آذربایجان شرقی (۱۴) گزارش کرده‌اند که در مقایسه با میزان به‌دست آمده در مطالعه‌ی حاضر بالاتر بودند. رعایت

بهداشت شیردوشی و مدیریت صحیح بهداشت پستان در مزارع شهرستان نیشابور می‌تواند علت شیوع نسبتاً پایین ورم پستان تحت‌بالینی در این شهرستان باشد. میزان شیوع عفونت استرپتوکوکوس آگالاکتیه در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی در مطالعه‌ی حاضر ۳۰/۶ درصد بود. مطالعات متعددی که شیوع عفونت استرپتوکوکوس آگالاکتیه را در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی در ایران بررسی کرده‌اند نتایج متفاوتی را در مناطق مختلف گزارش نموده‌اند. در مطالعه معتمدی و همکاران بر اساس آزمون PCR، استرپتوکوکوس آگالاکتیه عامل ۲۰ درصد از ورم پستان‌های تحت‌بالینی در گاوهای شیری اهواز بود (۱۵). شکوهی و همکاران از ۴/۶ درصد نمونه‌ی شیر گاوهای CMT مثبت شهر ماکو باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه را جداسازی کردند (۱۶). از ۱۷/۲ درصد از نمونه‌های شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی در گله‌های شهرکرد سویه‌های متعدد استرپتوکوکوس آگالاکتیه جداسازی شد (۱۷). مطالعه‌ی دیگری که در مقیاس بزرگ و طی مدت ۴ سال در گاو‌داری‌های اطراف تهران انجام شد از ۲۰۹۴ رأس گاو شیری CMT مثبت، ۲۲/۱۱ درصد عفونت استرپتوکوکوس آگالاکتیه داشتند که پس از استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی، دومین رتبه از لحاظ میزان شیوع را به خود اختصاص می‌داد (۱۸). همچنین میزان شیوع استرپتوکوکوس

گله‌های جمهوری ایرلند (۲۲) و ۳۱/۲۵ درصد در اسیوط مصر (۲۳) گزارش شده است. میزان شیوع این ارگانیزم در مطالعه‌ی اخیر بسیار نزدیک به نتایج مطالعه‌ی حاضر است. بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه عامل بخش قابل توجهی از موارد ورم پستان تحت‌بالینی در گله‌های شیری شهرستان نیشابور است و با توجه به پاسخ خوب این ارگانیزم به ضد عفونی کننده‌ها، اجرای برنامه‌های کنترلی می‌تواند در کاهش ورم پستان تحت‌بالینی در این شهرستان مؤثر باشد.

آگالاکتیه در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی استان فارس ۱۳/۵ درصد (۱۲)، استان گلستان ۵ درصد (۱۳) و اراک ۲۴/۶ درصد (۱۹) بوده است. تمام مطالعات ذکر شده میزان شیوع پایین‌تری را نسبت به مطالعه‌ی حاضر گزارش کرده‌اند. همچنین گزارش‌های متعددی از شیوع استرپتوکوکوس آگالاکتیه در عفونت‌های پستانی تحت‌بالینی گاو شیری در سراسر دنیا وجود دارد. شیوع این ارگانیزم در کارتیه‌های مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی ۱۵/۶ درصد در گله‌های شیری شمال شرقی لهستان (۲۰) و ۲۲/۳ درصد در گاوهای شمال مصر (۲۱)، ۲ درصد در

## References

- 1- Saila S, Bork O, Tucker IG, Cranefield S, Bryan MA. Evaluation of an on-farm culture system for the detection of subclinical mastitis pathogens in dairy cattle. *JDS*. 2023; 4(4): 298-302.
- 2- McDougall S, Clausen LM, Hussein HM, Compton CW. Therapy of subclinical mastitis during lactation. *Antibiotics*. 2022; 11(2): 209.
- 3- Merl K, Abdulmawjood A, Lämmle C, Zschöck M. Determination of epidemiological relationships of *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis. *FEMS Microbiol Lett*. 2003; 226(1): 87-92.
- 4- Keefe GP. *Streptococcus agalactiae* mastitis: a review. *Can Vet J*. 1997; 38(7): 429.
- 5- Cobo-Ángel C, Jaramillo-Jaramillo AS, Lasso-Rojas LM, Aguilar-Marin SB, Sanchez J, Rodriguez-Lecompte JC, et al. *Streptococcus agalactiae* is not always an obligate intramammary pathogen: Molecular epidemiology of GBS from milk, feces and environment in Colombian dairy herds. *PloS One*. 2018; 13(12): e0208990.
- 6- Keefe G. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2012; 28(2): 203-16.
- 7- Chen X, Chen Y, Zhang W, Chen S, Wen X, Ran X, et al. Prevalence of subclinical mastitis among dairy cattle and associated risks factors in China during 2012–2021: A systematic review and meta-analysis. *Res Vet Sci*. 2022; 148: 65-73.
- 8- Ranasinghe R, Deshapriya R, Abeygunawardana D, Rahularaj R, Dematawewa C. Subclinical mastitis in dairy cows in major milk-producing areas of Sri Lanka: Prevalence, associated risk factors, and effects on reproduction. *JDS*. 2021; 104(12): 12900-11.
- 9- Demil E, Teshome L, Kerie Y, Habtamu A, Kumilachew W, Andualem T, et al. Prevalence of subclinical mastitis, associated risk factors and antimicrobial susceptibility of the pathogens isolated from milk samples of dairy cows in Northwest Ethiopia. *Prev Vet Med*. 2022; 205: 105680.
- 10- Rafyi-Barzoki M. Study of the prevalence of bacterial mastitis and the economic loss due to it in dairy farms in Semnan province. Research & construction. 1998; 34: 110-111. [in persian]
- 11- Zamani F, Babaei M, Fazeli M, Sharifzade A. Economic Evaluation of subclinical mastitis in dairy herds in Esfahan Proceedings of the First Congress on Animal and Aquatic Sciences. 31 August-2 September. Tehran, Iran. 2004: 1022-4.
- 12- Hashemi M, Kafi M, Safdarian M. The prevalence of clinical and subclinical mastitis in dairy cows in the central region of Fars province, south of Iran. *IJVR*. 2011; 12(3): 236-241.
- 13- Pesarakloo M, Ahani Azari A, Danesh A. Prevalence and Antibiotics Resistance Patterns of Common Bacterial Causes of Bovine Subclinical mastitis in Selected Dairy Farms of Gorgan, North-east of Iran. *Vet Res & Biol Prod*. 2022; 35(1): 101-6. [in persian]
- 14- Naghshineh S, Rafat S, Shoja J, Moghaddam G, Ebrahimi M. Prevalence and Risk Factors of Subclinical Mastitis in Iranian Holstein

Cows. *IJAS*. 2015; 5(3): 569-574.

**15- Motamedi H, Seyfiabad SM, Ghorbanpour M, Jamshidian M, Gouraninezhad S.** A polymerase chain reaction based study on the subclinical mastitis caused by *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae* and *S. uberis* in cattle in Ahvaz. *IJVR*. 2007; 8(3): 260-265; 11(4): 379-396.

**16- Shokohi M, Ahmadizadeh C, Kaveh AA.** Evaluation of bacterial causes of subclinical mastitis in dairy cattle of Negine Sabze Makoo agro-industrial and animal husbandry complex. *JVCP*. 2018; 11(4): 379-88.[ in persian]

**17- Ebrahimi A, Moatamedi A, Lotfalian S, Mirshokraei P, editors.** Biofilm formation, hemolysin production and antimicrobial susceptibilities of *Streptococcus agalactiae* isolated from the mastitis milk of dairy cows in Shahrekord district, Iran. *Vet Res Forum*. 2013; 4(4): 269-272.

**18- Atyabi N, Vodjgani M, Gharagozloo F, Bahonar A.** Prevalence of bacterial mastitis in cattle from the farms around Tehran. *IJVR*. 2006; 7(3): 76-9.

**19- Mahzounieh M, Zadfar G, Maqami S, Shams N.** Bacteriological and epidemiological

aspects of mastitis in Arak area dairy herds (Iran). *Acta Vet Scand*. 2003; 44(1): 270.

**20- Barański W, Sztachńska M, Zduńczyk S, Janowski T, Pogorzelska J.** Prevalence and etiological agents of subclinical mastitis at the end of lactation in nine dairy herds in North-East Poland. *Pol J Vet Sci*. 2016; 19(1): 119-124.

**21- Abed AH, Menshawy AM, Zeinhom MM, Hossain D, Khalifa E, Wareth G, et al.** Subclinical mastitis in selected bovine dairy herds in North Upper Egypt: Assessment of prevalence, causative bacterial pathogens, antimicrobial resistance and virulence-associated genes. *Microorganisms*. 2021; 9(6): 1175.

**22- Barrett DJ, Healy AM, Leonard FC, Doherty ML.** Prevalence of pathogens causing subclinical mastitis in 15 dairy herds in the Republic of Ireland. *Ir Vet J*. 2005; 58(6): 1-5.

**23- Singh K, Mishra KK, Shrivastava N, Jha AK, Ranjan R.** Epidemiological Studies on Subclinical Mastitis in Dairy Cows of Rewa District of Madhya Pradesh. *Inter J Livest Res*. 2021; 11: 58-64.



## Prevalence of *Streptococcus agalactia* in subclinical mammary infections in dairy farms of Neyshabur city


Ali Akbar Toosi<sup>1</sup>, Mohsen Najimi<sup>2\*</sup>, Mohammad Javad Behzadi-Shahrbabak<sup>3</sup>

1- Graduated in doctor veterinary medicine, Department of pathobiology, Faculty of veterinary medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

2- Associate professor, Department of pathobiology, Faculty of veterinary medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

3- Assistant professor, Department of clinical science, Faculty of veterinary medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: June 17, 2023; Revise: June 20, 2023; Accept: June 26, 2023

 10.22034/nfvm.2023.402704.1190

### Summary

Mastitis caused by *Streptococcus agalactia* is still one of the important health and economic problems in the dairy industry in many parts of the world. The aim of this study was to investigate the prevalence of *Streptococcus agalactia* infection in cows with subclinical mastitis in dairy herds of Neyshabur city. A total of 500 cows from 13 dairy herds in Neyshabur city were included in the study. Milk samples were taken from all quarters and evaluated for subclinical mastitis using the California mastitis test. Quarters that were positive in the California mastitis test were re-sampled and evaluated for *Streptococcus agalactia* infection using polymerase chain reaction. Out of the total of 2000 examined cows, 115 cows (5.7%) belonging to 88 cows (17.6%) had subclinical mastitis. *Streptococcus agalactia* infection was found in 30.6% of cows with subclinical mastitis. According to the results of the present study, *Streptococcus agalactia* includes a significant part of subclinical mammary infections in dairy farms of Neyshabur city.

**Keywords:** *Streptococcus agalactia*, California mastitis test, Polymerase chain reaction