

مطالعه فراواتی استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در پنیرهای محلی آذربایجان غربی به روش کشت و PCR

منصور خاکپور^۱، محمد سعید عزتی^۲، کاوان محمودی^۳، مرجان خلجی پیربلوطی^۳، رامین خاکسار^۴

۱- گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ایران. پست الکترونیکی khakpour@iaut.ac.ir

۲- دانش‌آموخته دوره دکتری دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، ایران

۳- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: جنس استافیلوکوکوس یکی از باکتری‌های حائز اهمیت در بهداشت مواد غذایی و بیماری‌های انسانی و دامی است. شیر ماده‌ای اولیه مناسب جهت رشد استافیلوکوکوس اورئوس بوده و فراورده‌های شیری منبع شناخته شده‌ای برای مسمومیت‌های استافیلوکوکوسی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه جهت تعیین میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس در پنیرهای محلی آذربایجان غربی با روش کشت انجام شده است. مجموعاً ۸۵ نمونه پنیر به صورت تصادفی جمع آوری و مورد آزمایش قرار گرفتند. در ادامه با استفاده از تکنیک پی سی آر تایید تشخیص صورت گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج این مطالعه ۶ مورد (۷/۰۵٪) از نمونه‌ها آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس ۱۲ مورد (۱۴/۱۱٪) آلوده به استافیلوکوکوس اینترمدیوس بودند و بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه ۲۱/۱۷٪ از نمونه‌ها استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت، و ۴۸/۲۳٪ درصد از نمونه‌ها به استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی آلوده بودند.

نتیجه‌گیری: این امر توجه و رعایت شرایط بهداشتی را در حین تولید و ضرورت استفاده از شیر پاستوریزه را در تهیه پنیر نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، پنیر محلی، کشت، PCR

مقدمه

از آن پنیر تهیه می‌شود، به انواع پنیر گاو میش، گاو، گوسفند، بز و مخلوط (گاو و گوسفند) تقسیم می‌شود. جنس استافیلوکوکوس یکی از باکتری‌های حائز اهمیت در بهداشت مواد غذایی و هم‌چنین از نظر بیماری‌های انسانی و دامی است. از گونه‌های مختلف این جنس برخی ایجادکننده مسمومیت‌های غذایی، برخی عامل ایجاد زخم‌های پوستی، دمل و برخی باعث ایجاد عفونت‌های بیمارستانی بسیار خطرناک و گاهاً مقاوم به درمان می‌شوند. استافیلوکوکوس یکی از گونه‌های فرصت طلب حاضر در سطوح بدن جانداران خون گرم است. مهم‌ترین مسئله

پنیر از مهم‌ترین فراورده‌های لبنی است که در تغذیه بشر، سهم بسزایی دارد و ضمن تأمین مواد لازم جهت رشد، در مطبوع ساختن غذای روزانه مؤثر است. در مناطق روستایی و عشایری به علت عدم وجود سردخانه جهت نگهداری شیر و همین‌طور طعم مطبوع پنیرهای سنتی، ساخت و مصرف این فراورده متداول می‌باشد. از آن جایی که مصرف پنیر سنتی در بسیاری از نقاط کشور رواج دارد، آلودگی میکروبی آن می‌بایست مورد توجه قرار گیرد. پنیرهای محلی تولید شده بسته به نوع شیری که

به منظور جستجو و شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس، از نمونه آماده شده، به کمک یک پیپت یک میلی لیتری، یک میلی لیتر را برداشته و به شیشه‌های در پی چدار محتوی محیط گوشت انتقال داده شد. سپس شیشه‌ها را خوب به هم زده و به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و دوباره از نمونه آماده شده به کمک یک پیپت برداشته و به محیط کشت برد پارکر آگار می‌ریزیم و با استفاده از یک میله شیشه‌ای خمیده سترون در روی سطح محیط کشت به خوبی پخش شود در پلیت‌ها گذاشته تا کاملاً نمونه جذب محیط شود و سطح آن‌ها کمی خشک شود و سپس آن‌ها را وارونه به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از ۴۸ ساعت، پلیت برد پارکر را از گرمخانه بیرون آورده پرگنه‌های سیاه رنگی در محیط کشت ظاهر می‌شود. محیط برد پارکر آگار محیط تشخیصی استاف می‌باشد (۹).

برای تشخیص و تایید *استافیلوکوکوس اورئوس* از تست‌های بیوشیمیایی مختلف از جمله کاتالاز، کواگولاز، DNase، لیستیناز، اکسیداز، مالتوز، VP، اسکولین، اوره استفاده شد و در نهایت جهت تایید نهایی تحت آزمایش PCR قرار گرفت.

روش کار مولکولی (استخراج DNA و PCR)

استخراج DNA: ابتدا ۳-۲ کلنی باکتری برداشته و به داخل یک میکروتیوپ انتقال داده شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر بافر لیزکننده به آن اضافه شده و در دمای ۶۰ درجه در داخل بن‌ماری به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه می‌شد و در ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴+ سانتی‌فریوژ شده و فاز رویی به میکروتیوب ۱/۵ جدید و تمیز انتقال شده و مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از مخلوط کلروفورم-الکل ایزوآمیلیک به آن افزوده می‌شد و در ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴+ درجه سانتی‌فریوژ شده و فاز رویی به داخل یک میکروتیوپ جدید و تمیز منتقل شده و هم حجم آن ایزوپروپانل با دمای ۲۰- درجه افزوده می‌شد و در فریزر در دمای ۲۰- به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شده بعد از ۳۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴+ درجه سانتی‌فریوژ شده و مایع رویی تخلیه و میکروتیوپ حاوی DNA وارونه شده تا کاملاً خشک شود و بعد مقدار ۲۰۰-۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آن اضافه شده و به آرامی با سمپلر به وسیله UP-DOWN کردن مخلوط شده و غلظت DNA حاصل در اسپکتروفتومتر در ۲۶۰ نانومتر مورد ارزیابی

ایجاد شده توسط *S. aureus*. برای بهداشت عمومی به‌ویژه از نظر بهداشت مواد غذایی مسمومیت غذایی است به‌وسیله انتروتوکسین تولید شده توسط میکروارگانیسم ایجاد می‌شود. خصوصیات مسمومیت ایجاد شده به‌وسیله استافیلوکوکوس اورئوس عبارتند از: دوره کمون کوتاه ۳۰ دقیقه تا ۸ ساعت، استفراغ، درد و کرامپ‌های شکمی، نبض ضعیف، تعریق، کاهش حرارت بدن. در این مسمومیت مرگ و میر بسیار نادر است و بهبودی طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت رخ می‌دهد. این مسمومیت یکی از شایع‌ترین مسمومیت‌های غذایی در جهان است و در اکثر کشورها جزو ۳ عامل اول مسمومیت‌های غذایی در جهان هست است (۱۸، ۱۶).

لذا به دلیل اهمیت موضوع مطالعه حاضر جهت تعیین میزان شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت در پنیرهای محلی براساس روش‌های کشت طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۸۵ نمونه از پنیرهای محلی عرضه شده استان در بازار ارومیه در آذرماه ۱۳۹۰ بطور تصادفی و از هر کدام به مقدار ۳۰۰ گرم انتخاب و با دستکش یکبار مصرف در داخل ظرف استریل قرار داده شد. سپس مشخصات نمونه نظیر نوع پنیر (گوسفندی، گاو، مخلوط (گوسفندی + گاو))، محل تولید، تاریخ و محل و ساعت نمونه برداری و زمان تولید روی هر یک از ظرف‌ها ثبت شد و سریعاً در شرایط مناسب به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز انتقال داده شد (۷).

ابتدا پنیر را از یخچال خارج کرده و نمونه‌ها در یک ظرف که دارای اندازه و شکل مناسب است قرار داده شد تا تحت فشار قرار نگرفته و خرد نشود سپس توسط قاشق‌های فلزی سترون، از عمق پنیر ۲۵ گرم نمونه را برداشته و به هاون چینی سترون انتقال داده شد (۸).

برای رقیق سازی از محلول رقیق‌کننده سیترات سدیم، استفاده شد که برای تهیه این محلول، ۲ گرم سیترات سدیم را در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده سپس در ظرف مناسب با حجم مورد نظر تقسیم نموده و در اتوکلاو در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ دقیقه سترون شد. البته در هنگام تهیه نخستین رقت، سیترات سدیم را قبلاً در بن‌ماری قرار داده تا حرارت آن به حدود ۴۰ درجه سانتی‌گراد برسد. در ادامه، از این محلول رقیق‌کننده سیترات سدیم، به هاون چینی حاوی نمونه، تدریجاً اضافه شد (۱۱).

یافته‌ها

در این مطالعه ۸۵ نمونه پنیر سنتی عرضه شده استان در بازار ارومیه در برای بررسی آلودگی مورد مطالعه قرار گرفت که مشخصات این نمونه‌ها در جدول ۱ مشخص شده است. براساس نتایج این مطالعه ۶ مورد (۷/۰۵٪) از نمونه‌ها آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* و ۱۲ مورد دیگر (۱۴/۱۱٪) از نمونه‌ها آلوده به *استافیلوکوکوس* / *اینترمدیوس* بودند و بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه ۲۱/۱۷٪ از نمونه‌ها *استافیلوکوکوس* های کواگولاز مثبت و ۴۸/۲۳٪ از نمونه‌ها به *استافیلوکوکوس* های کواگولاز منفی آلوده بودند.

جدول ۱. توزیع فراوانی و درصد نمونه‌های مورد آزمایش

نوع	تعداد	درصد
گوسفندی	۴۰	۴۷/۰۵
گاو	۲۹	۳۴/۱۱
مخلوط	۱۶	۱۸/۸۲
کل	۸۵	۱۰۰

جدول ۲. توزیع فراوانی نتایج کشت نمونه‌ها برحسب نوع شیر

نوع شیر	مثبت	منفی
گوسفندی	۲۸	۱۲
گاو	۱۹	۱۰
مخلوط	۱۲	۴
کل	۵۹	۲۶

از تعداد ۸۵ نمونه پنیر ۲۶ مورد در محیط کشت بردپارکر آگار از نظر رشد باکتری منفی بوده (شمارش طبق استاندارد ملی ۱۱۹۴ اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی کشور انجام شد). (۶).

در ۵۹ نمونه در محیط کشت بردپارکر آگار مثبت بوده که پرگنه‌های سیاه در محیط کشت ظاهر شده بود. برای جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* نمونه‌های مثبت با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند که نهایتاً ۱۸ مورد از نمونه‌ها کواگولاز مثبت بوده و با استفاده از آزمایشات تکمیلی مشخص شد از این تعداد ۶ مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* و ۱۲ مورد *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* می‌باشد. در ادامه در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* ها با استفاده از تکنیک پی سی آر تأیید تشخیص

قرار گرفته و برای اطمینان از وجود DNA تمامی نمونه‌ها مورد الکتروفورز قرار گرفتند (۲۱، ۱۵، ۱۲).

انجام PCR: جهت بررسی واکنش‌های زنجیره ای پلیمرز (PCR) باید به دو قسمت تشکیل دهنده آن، یعنی ترکیب شیمیایی و شرایط دمایی آن توجه کرد، لذا در این بخش اجزاء و مواد تشکیل دهنده واکنش PCR و نیز برنامه دمایی و زمانی انجام آن به صورت فهرست وار آورده شده است. پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش بر مبنای سکانس ژن nuc مورد استفاده قرار گرفت (۲).

primer 1: 5'-GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT-3',
primer 2: 5'-AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC-3

PCR materials:

Template DNA 2 µl (from BHI medium)
dNTPs 1 µl (10 mM)
Enzyme (Taq DNA polymerase) 1 µl (5U/µl)
Buffer (10X) 6 µl
MgCl₂ 2.5 µl (50 mM)
Primer 1 µl
D. W. 36.5 µl

PCR program:

95°C 10 min (initial denaturation)
94°C 1min (denaturation)
55°C 30s (annealing)
72°C 1.5min (extension)
Go to 2 37 cycles
72°C 5 min (final extension)

الکتروفورز DNA با ژل آگاروز: درصد ژل آگارز استفاده شده، ۱/۵٪ بود. پس از انحلال کامل و کاهش دمای ژل، تهیه شده در ظرف الکتروفورز مناسب (سینی الکتروفورز) که قبلاً شانه گذاری شده بود، ریخته شد. پس از آماده شدن ژل و جداکردن شانه، ظرف به تانک الکتروفورز انتقال یافت. نمونه‌های DNA به نسبت ۵ به ۱ با بافر بارگذاری ۶x (Loading Buffer) مخلوط شده و در چاهک‌های ژل ریخته شدند. ولتاژ دستگاه در حدود ۸۵-۱۰۰mv تنظیم شد و نمونه‌ها به مدت ۱-۱/۵ ساعت روی ژل حرکت کردند. پس از اتمام الکتروفورز، ژل از تانک خارج شد و در محلول اتیدیوم بروماید با غلظت ۰.۰۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر قرار داده شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه ژل از محلول رنگ خارج شده و از ژل مورد نظر عکسبرداری شد (۱۲، ۲).

جمع‌آوری شده، ۳۱ درصد آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت بودند (۱).

در مطالعه‌ای که توسط Donnelly و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد، شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت در پنیر چدار (که عامل ایجاد مسمومیت غذایی می‌باشد) از ۳۴۳ نمونه از پنیر چدار، ۲۰ درصد آن دارای *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت بودند (۵).

در مطالعه‌ای که در کشور برزیل توسط Claudia و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد نتایج به دست آمده نشان داد که از ۲۴ نمونه پنیر جمع‌آوری شده ۱۷ نمونه (۸/۷۰٪) به عدم رعایت بهداشت آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند (۳).

مرحمتی‌زاده و همکاران (۲۰۰۸) ضمن بررسی آلودگی ۵۰ نمونه پنیر سنتی در شهرستان کازرون مشاهده کردند که ۲۳ نمونه (۴۶٪) به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند (۱۶).

در مطالعه‌ای که در کشور انگلستان توسط Little و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد، نتایج تاکید بر این دارد که با ایجاد شرایط بهداشتی مناسب می‌توان از رشد باکتری‌ها جلوگیری کرد و پنیرهایی که از شیر خام به دست می‌آیند میزان *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتری نسبت به پنیرهای حاصل از شیر پاستوریزه دارند (۱۴).

در مطالعه‌ای که توسط علی محمدی ثانی در شهرستان مشهد و قوچان (۲۰۰۹) انجام شد، از ۱۴۸ نمونه پنیر سنتی، ۴/۳٪ به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده بودند (۱۷). در تحقیقی توسط Singh و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد، از ۷۱ نمونه پنیر جمع‌آوری شده، ۴۳ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* مثبت و ۹ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* پاتوژنیک بودند و درصد شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر ۸/۱۲٪ بود (۲۰).

دستمالچی ساعی و همکاران (۲۰۰۹) ۳۷۰ نمونه شیر مربوط به گاوهای با ورم پستان بالینی و تحت بالینی موجود در ۹ گاوداری شیری موجود در آذربایجان شرقی و غربی را با روش کشت و تست‌های بیوشیمیایی و نیز واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز مورد ارزیابی قرار داده و از مجموعه نمونه‌ها ۵۸ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی نمودند (۴). که با نتایج مطالعه ما هم‌خوانی کامل دارد.

در مجموع می‌توان گفت روش تولید پنیر سنتی در مناطق مختلف کشور و کشورهای دیگر متفاوت بوده و حتی

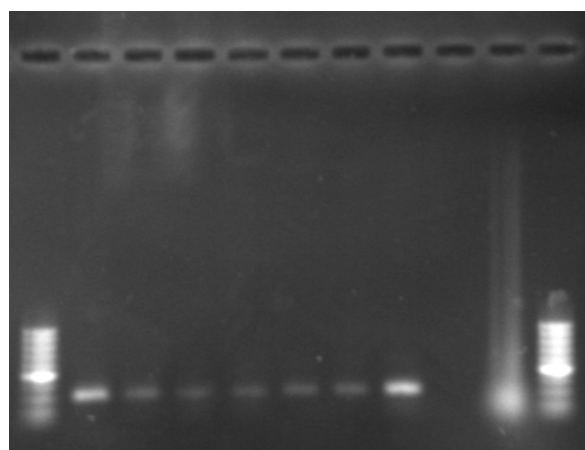
صورت گرفت. در جدول ۴ نتایج نهایی نمونه‌های پنیر مورد بررسی از نظر رشد باکتری در ۸۵ نمونه مشخص شده است.

جدول ۳. آلودگی نمونه‌ها برحسب نوع پنیر

نوع پنیر	مثبت	منفی
نرم	۱۵	۴
سفت	۶	۱۴
نیمه سفت	۱۱	۹

جدول ۴. نتایج نهایی نمونه‌های پنیر مورد بررسی از نظر رشد باکتری

موارد منفی	موارد مثبت
۵۹	۲۶
کواگولاز منفی	کواگولاز مثبت
۴۱	۱۸
اورئوس	انترمدیوس
۶	۱۲



شکل ۱. گوده ۱ سایز مارکر، گوده ۲ نمونه شاهد، ۶ گوده بعدی نمونه‌های مثبت باندهایی به اندازه ۲۷۰ bp

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس باکتری گرم مثبت، غیر اسپورزا و فاقد کپسول، غیر متحرک، هوازی و بی‌هوازی اختیاری است (۱۰).

این باکتری یکی از مهم‌ترین عوامل مسمومیت غذایی است که به‌خصوص از طریق فرآورده‌های لبنی منتقل می‌شود. بنابراین توجه به آلودگی آن بسیار مهم است.

در تحقیقی که در شهر موصل عراق توسط Abbar و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد، از ۲۳ نوع پنیر مختلف

لاکتیک به‌خصوص باکتریوسین‌ها می‌باشد (۱۹). با بررسی نتایج مطالعه حاضر و مقایسه با نتایج پژوهش‌های مشابه در مجموع می‌توان گفت که میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت به‌خصوص در پنیرهای تازه با سن کم در پنیرهای محلی آذربایجان غربی در حد قابل توجهی می‌باشد.

فلور میکروبی آن‌ها نیز یکی نیست. به همین علت میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس در مناطق مختلف متفاوت می‌باشد. لازم به ذکر است که با گذشت زمان و افزایش مدت ماندگاری پنیر، شمارش استافیلوکوکوس اورئوس کاهش می‌یابد (۵). از جمله دلایل کاهش شمارش میکروبی افت pH و تولید عوامل ضد میکروبی توسط برخی باکتری‌های

References

1. Abbar FM, Tahir Mohammed M. Identification of som enterotoxigenic strains of Staphylococci from locally processed cheese. Food Microbiology 2001; 3: 33-36 .
2. Brakstad OG, Aasbakk K, Macland JA. Detection of Staphylococcus aureus by polymerase chain reaction amplification of nuc gene. J Clin Microbiol 1992; 30: 1654-60
3. Claudia M, Ander DPB, Hidalgo Campos MR, Borges LJ, Kipnis A. comparison of Staphylococcus aureus isolates from food handlers , raw bovin food Microbiology 2005; 76: 567-71
4. Dastmalchi H, Ahmadi M, Mardani K, Batavani RA. Molecu. typing of staphylococcus aureus isdated from bovine mastitis based on polymorphism of the coagulase gene in the north west of Iran , Veterinary microbiology 2009;137: 202-206 .
5. Donnelly CB, Blak LA, Lewis KH. Occurrence of coagulase-positive Staphylococci in cheddar cheese. Applied Microbiology 2005; 12(4) 311-15
6. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1985). Methodology of Identification and Counted Cuagulase positive Staphylococcus aureus in foods Standard No. 1194. [in persian].
7. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1991). White Cheese Standard No. 2344. [in persian]
8. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1995). General test procedures and methods used in microbial food. Standard No. 2344 [in persian].
9. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1996). Prepare food samples and counting of microorganisms. Standard No. 356 [in persian].
10. Jawets E, Melnick JL, editors. Review of medical microbiology. 20 th edition. New York, Appleton & Lange. 1995 .
11. Karim G. Food Microbial Testing Tehran University Press. 2008; PP:128-138. [in persian].
12. Krystyna K. specific detection of staphylococcus aureus by PCR in intramammary infection. Bull. vet. inst. 2003; 47:183-190
13. Lamperll H, Villard L, ChaBeuvier E, Borgers E, Maurin FF, Mazer Olles G. No retail chesse made from raw thermizd or pasterurizd milk in the UK. food Microbiology 2008; 25:304-12.
14. Little CL, Rhoades JR, Sagoo SK, Harris j, Greenwood M, Mithani V, et al. Idification and biotyping of coagulase positive staphylococci in ripend Franch raw milk cheese and thire in virto ability to production entrotxcin. Revue Med Vet 2006; 155: 92-96.
15. Lovseth A, Loncarevic S, Berdal KG. Modified multiplex PCR method for detection of pyrogenic exotoxin genes in staphylococcal isolates. J. Clin. Microbiol 2004; 42: 3869–72.
16. Marhamatizadeh MH, Karim G Staphylococcus aureus contamination of traditional cheese Cuagulase positive the city Kazeroun. Food Science and Nutrition. 2004; 2(4):33-44 [in persian].
17. Mohhamadi SA. Contamination of cheeses available in the city of Mashhad distribution Quchan pathogens, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Twelfth National Conference on Environmental Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2009. [in persian].
18. Razavilar, V. (2008). Epidemiology of pathogenic microbes in food and food poisoning Tehran University Press. PP:127-135. [in persian].
19. Rodriguez E, Calzada J , Arquez J L, Rodriguez JM, N unez M, Medina M. Antimicrobial activity of pediocin –producing Lactococcus lactis on Listeria monocytogenes ,Staphylococcus aureus and Escherichia coli O157:H7 in cheese,(2005),. Internaltiona Dairy Journal. 15,issue 1. pp:51-57 .
20. Singh P, Praksh A. Prevalence of coagulase positive pathogenic Staphyococcus in milk products collected from unorganized form unorganized sector of agre ,(2010),. acte argiculturae slovenica 2010;96:37-41.
21. Stepan J, Pantucek R, Doskar J. Molecular diagnostics of clinically important Staphylococci. Folia Microbiol. (Praha) 2004; 49:353–86.

Prevalence of Coagulase-positive *Staphylococcus aureus* in local Cheese in West Azerbaijan with culture and PCR method

Khakpoor M^{*1}, Ezzati MS², Mahmoodi K², Khalaji Pirbaluti M³, Khaksar R⁴

1. *Corresponding author: Dept. of Pathobiology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
E-mail: khakpour@iaut.ac.ir.
2. Graduated of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
3. Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4. Associate Prof., Dept. of Food Sciences and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objectives: *Staphylococcus aureus* as the third important factor in diseases of food origin are discussed. Milk raw material suitable for the growth of *Staphylococcus aureus* and dairy products, the source is documented for Staphylococcal poisoning.

Materials and Methods: This study determined the prevalence *Staphylococcus aureus* local cheese in West Azerbaijan by culture and PCR techniques has been done. Total 85 samples randomly selected collected form West Azerbaijan.

Results: Based on the culture method 7.05% of on samples infected with *Staphylococcus aureus* 14.11% of samples infected with *Staphylococcus intermedius* finding indicates that 21.17% of sample infect with coagulase positive *Staphylococcus* 48.23% of samples infected with coagulase negative *Staphylococcus*.

Conclusion: This necessitates attention observation concerning hygienic conditions during production and requires the use of pasteurized milk to produce cheese.

Keyword: *Staphylococcus aureus*, Local cheese, Culture, PCR