مقایسه محیط های انتخابی در بازیافت یرسینیا انتروکولی تیکای پاتوژن و گونه‌های محیطی به طور مستقیم از کشت خالص و کشت مدفوع

نسرین بهمنی*- محمد مهدی سلطان دلال**

*کارشناس ارشد گروه میکروب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
**دانشیار گروه میکروب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت مقاله: ۸۲/٦/۱۱
تاریخ پذیرش: ۸۲/۱۰/۱۳

چکیده

مقدمه: یرسینیا یک باکتری گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد. یرسینیا انتروکولیتیکای پاتوژن عامل مهم بیماری‌های انسانی در بسیاری از نقاط جهان می‌باشد.

هدف: در این مطالعه سه هدف دنبال می‌شود:۱ـ تعیین توانایی محیط های کشت مختلف در رشد سویه‌های خالص یرسینیاانتروکولیتیکا ۲ـ تعیین توانایی محیط‌های کشت مختلف در مهار رشد فلور مدفوع ۳- بررسی توانایی این محیط‌ها در بازیافت یرسینا از مدفوع که به طور تجربی به آن اضافه شده است.

مواد و روش‌ها: مرحله اول شامل سوسپانسیون‌هایی از ٤۲ سویه گونه‌های مختلف یرسینیا به طور خالص روی محیط های CIN آگار ،MAC آگار، CAL آگار، YSA ، HEK آگار و BA کشت داده شد که در نهایت درصد بازیافت یرسینیا نسبت به BA محاسبه شد. در مرحله دوم سوسپانسیون‌هایی از ۲۰ نمونه مدفوع نرمال (بدون اسهال) به صورت مخلوط تهیه شد و روی محیطهای فوق کشت داده شد و درصد بازدارندگی محیط‌ها برای فلور مدفوع نسبت به BA محاسبه شده در مرحله سوم به سوسپانسیون‌هایی از مخلوط مدفوع مرحله دوم با دو رقت 10^{-2} و 10^{-7} تعداد ۳۱ سویه از یرسینیا با گونه‌ها مختلف با دو غلظت ۱۰۳ و ۱۰٤ Cfu/ml اضافه کرده و میزان بازیافت یرسینیا نسبت به CIN محاسبه شد.

نتایج: نتایج در مرحله اول، میانگین رشد روی محیط CIN بیشترین(۸۹/۵ درصد) و روی HEK کمترین(٤۵/۷ درصد) بوده است. در مرحله دوم درصد میانگین مهاری برای فلور مدفوع روی CIN بیشترین(۸۸/۲ درصد) و روی MAC کمترین (۹ درصد) بوده و در مرحله سوم بیشترین درصد میانگین بازیافت متعلق به CAL (٤۷/۲ درصد) و کمترین مربوط به HEK (۲٤/۱ و ۲۰/۲ درصد) و MAC (۲۱/٤ و ۱۷/۷ درصد) بوده است.

نتیجه‌گیری: محاسبات آماری و استفاده از آزمون تعقیبی Bonferroni نشان می‌دهد که CIN آگار در مقایسه با ٤ محیط کشت دیگر یک محیط با قدرت انتخابی، افتراقی با حساسیت بالا است و نتایج ما نشان می‌دهد که فلور روده باعث کاهش بازیافت پاتوژن‌های روده‌ای مانند یرسینیا انتروکولی تیکا از مدفوع میشود و استفاده از یک محیط با سلکتیویته بالا در آزمایشگاه باعث افزایش جداسازی یرسینیا انتروکلی‌تیکا و گونه های مشابه آن از نمونه‌های چند میکروبی مانند مدفوع می شود.

کلید واژه ها: انتروکولیتیکا یرسینیا / محیط کشت/ یرسینیا

مقدمه

جنس یرسینیا ازخانواده انتروباکتریاسه شامل سه گونه پاتوژن انسانی به نام‌های Y.enterocolitica, Y.pseudotuberculosis, Y.pestis است در حالی‌که گونه‌های محیطی فرصت طلب هستند و شامل: y. bercovieri, y. kristenseni y.intermedia, y.frederiksenii , y.aldovae , y.ruckeri , y.rohdei , y.mollaretii می‌باشند. (۹)

Y.pestis ، ارگانیسم عامل طاعون است که در سال ۱۸۹٤توسط الکساندر یرسین در جریان یک اپیدمی در هنگ کنگ جدا شد(۱۱).

Y.enterocolitica، یک باکتری زئونوز است و به طور گسترده در منابع گوناگون در هر کشوری وجود دارد و به سرعت به صورت یک پدیده جهانی به عنوان یک پاتوژن روده ای با طیف وسیعی از تظاهرات بالینی ایمنولوژیک مطرح است.

نویسنده مسئول : نسرین بهمنی؛ سنندج- خ حسن آباد- کوی عارف قزوینی پلاک۳ کدپستی: ٦٦۱۸٦-۱٤۷۱۳
Serveh82@yahoo.com

Y.enterocolitica یـک عـامل بـیماریزای ناشی از مصرف مـواد غذایـی اسـت و می تواند در درجه حرارت یخچال رشد کند. این میکروب از موادی مانند گوشت خوک، گاو ،گوسفند(۵و۷) شیرخام وانواع سبزی‌ها(۲)جدا شده است. خوک مهم‌ترین مخزن سویه های ویرولان آن است(٦).

ایـن باکـتری عـامل سـندروم‌های متعدد روده ای و خارج روده ای بـا شـدت‌هـای مـتفاوت اسـت شـامل: انتریـت، ایلیینـت انتهایـی ، لنفادنیـت مزانـتریک بـا ایجـاد پسـودو آپاندیسـیت و بـیماری‌هـای ایمونولوژیـک مانند آرتریت، اریـتما، سـندروم رایـتر، گلومرولونفریت، میوکاردیت و... ایجاد عفونت بیشتر با سروگروپ O:3 و O:9 است (۹).

ممکن است فراورده های آلوده خونی هم باعث سپتیسمی یرسـینیایی بشـوند سپتیسـمی با ۵۰ درصد مرگ و میر در افراد دچار نقص ایمنی گزارش شده است .(۱۲)

Schiemann در سـال ۱۹۸۳ پـنج محـیط CAL ، BSA ، MAC ،DHI و CIN را در بازیابی کشت خالص‌سویه‌های Y. enterocolitica بررسی‌کرد ونشان داد که CIN بالاترین درصد جداسازی را دارد(۱۱).

در سـال۱۹٦۹ Nilehn ، در ۱۹۷۳ Wauters، در ۱۹۸۲ Head و در ۲۰۰۰ Jiang ثابـت کـردند که محیط CIN در جداسـازی نمونـه هـای چـند میکروبـی قدرت انتخابی و افتراقی بالایی دارد.

Head و همکاران در سال ۱۹۸۲ سوش‌های مختلفی از یرسینیا را روی محیط‌های پکتین آگار،SS، MAC ، CAL، YM و CIN کشت دادند که جداسازی روی محیط CIN بیشتر از همه و بر YM کمتر از همه بود(٤).

مواد و روش ها

ارگانیسم‌های مورد بررسی

٤۲ سـویه از سـروتایپ‌هـای مخـتلف یرسـینیا در ایران و فرانسه از آب ، شیر و انسان جدا شد که شامل :(4) O:3 ، O:4/32(1)، O:5(5)، O:6(1) ، O:6/30(1) ، O:7/8(2)، O:8(2) ، O:9(4) ، O:21(1) ، O:39(1) ، O:55(2)، O:11/24(1)، AA:(2) و سوش‌های ایران(13) ، 10K34(1) بود.

از همـه نمونـه ها در فسفات بافر با PH = ۷/۲ در شرایط استریل سوسپانسیون تهیه شدو کدورت آن بااستاندارد۰/۵ مک فارلند مقایسه شد.

نمونه های مدفوع

۲۰ نمونه از ارگانیسم‌های غیربیماریزا انتخاب شدند که از نظر ماکروسکپی اسهال و از لحاظ میکروسکوپی لکوسیت نداشـتند در نهایت نمونه ها روی محیط SS برای بررسی باکـتری‌هـای گـرم منفـی بـیماریزا و بر محیط CIN برای یافتـن یرسـینیا بررسـی شـدند و در فسـفات بافـر آنها به صورت Pooled (مخلوط) سوسپانسیون تهیه شد .

محیط‌های کشت

سفسـولیدین ایـرگازان نئوبیوسـین آگـار (CIN) ، سـلوبیوزآژرنین لیزین آگار (CAL) ، یرسینیا سلکتیو آگار (YSA)، مـک کانکـی آگـار(MAC) ، هکتون انتریک آگار (HEK) و بلاد آگار(BA) بودند.

روش آزمایش

محیط‌های انتخابی در سه مرحله آزمایش شدند :

مـرحله اول : توانایـی محـیط‌هـای انتخابـی در حمایت از رشـد سـویه هـای خـالص یرسینیا بررسی شد. ٤۲ سویه خالص یرسینیا پس از آماده سازی و تعیین رقت مناسب با رقتCfu/ml ۱۰٤روی محیط‌های کشت انتخابی و با رقت ۱۰۲Cfu/ml روی BA بـه مـیزان ۱۰ میکرولیـتر به صورت دوپلیکیـت کشـت داده شـدند . بعـد از انکوباسیون، همه پلیـت‌هـا در ۲۵ درجـه سـانتیگراد و به مدت ٤۸ ساعت، تعـداد کلنـی هـا روی همـه محـیط‌هـا شمارش و درصد بازیافت یرسینیا نسبت به BA محاسبه شد .

مرحله دوم : توانایی محیط‌های انتخابی در مهار رشد فلور مدفـوع بررسـی شـد .ماده تلقیحی به محیط کشت، همان نمونـه‌هـای رقیق شده مدفوع در فسفات بافر بود که وقتی ۱۰ میکرو لیتر از آن به محیط کشتBA تلقیح شود بتواند ۱۰۰ تا ۵۰۰ کلنی بر روی آن ایجاد کند. بعد ازکشت همه محـیط‌هـا بـه صورت دوپلیکیت و انکوباسیون آنها در ۲۵ درجه‌سانتیگرادبه‌مدت ٤۸ساعت ، درصد بازدارندگی فلور

مدفوع توسط محیط‌ها به عنوان درصد اختلاف شمارش کلنی بدست آمده از BA و محیط‌های انتخابی بیان شد.

مرحله سوم : خصوصیت‌های انتخابی و افتراقی محیط‌ها در جدا سازی یرسینیا که بصورت تجربی به سوسپانسیون‌های مدفوع مرحله دوم تلقیح شد مورد بررسی قرار گرفت. که این مرحله خود شامل سه قسمت است، ماده تلقیحی به محیط‌های کشت سوسپانسیونی از رقت‌های ۲-۱۰ و ۷-۱۰ مدفوع است که مقدار مشخصی از غلظت ۱۰۳ و ۱۰۴ یرسینیا دارد.

قسمت اول : به رقت‌های ۲-۱۰ مدفوع به مقدار ml ۰/۱ از سوسپانسیون‌های ۳۱ سویه یرسینیا با غلظت Cfu/ml ۱۰۴ اضافه شد و از این سوسپانسیون ml ۰/۱ به صورت استریل روی محیط‌های مورد نظر کشت داده شد . بعد از انکوباسیون در۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت برای کلنی‌هایی که از نظر مرفولوژی شبیه یرسینیا بودند تست اوره و ONPG انجام شد در مثبت شدن هر دو تست، تعداد کلنی ها شمارش و درصد بازیافت یرسینیا از روی محیط‌ها نسبت به CIN محاسبه می شد .

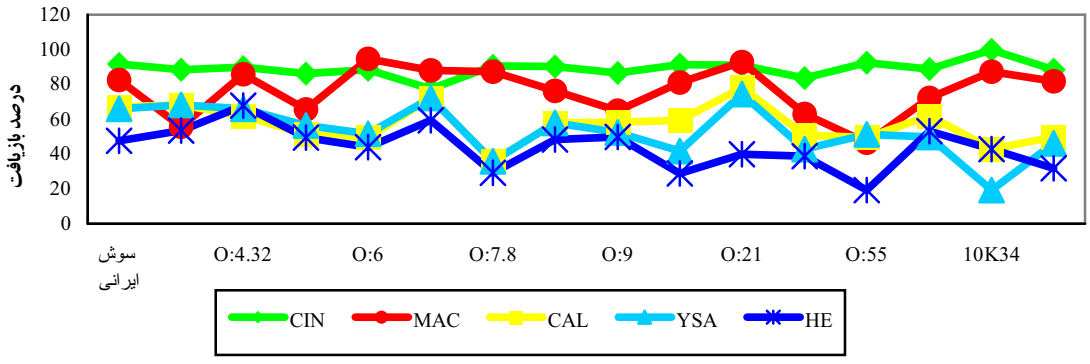
قسمت دوم: مانندقسمت اول انجام شد ولی با این تفاوت که به جای استفاده از رقت ۱۰۴ یرسینیا از رقت ۱۰۳ آن بکار رفت.

قسمت سوم : مانند قسمت اول بود ولی با این تفاوت که به جای استفاده از رقت ۲- ۱۰ مدفوع از رقت ۷- ۱۰ آن و غلظت ۱۰۴ یرسینیا استفاده شد .

در تمام قسمت‌های مرحله سوم تست‌ها به صورت دوپلیکیت کشت داده شدند.

نتایج

در مرحله اول، محیط CIN بیشترین درصد رشد با میانگین۸۹/۵ درصد و محیط HEK کمترین درصد رشد بامیانگین۴۵/۷ درصدرا داشته است.با استفاده‌ازمحاسبه‌های آماری مانند آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی BONFERRINI نشان‌داده‌شد که بین محیط‌های CAL, YSA از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دربازیافت سویه‌های‌خالص یرسینیاوجودنداشت، ولی بین بقیه محیط‌ها اختلاف معنی‌دار بود(شکل ۱).

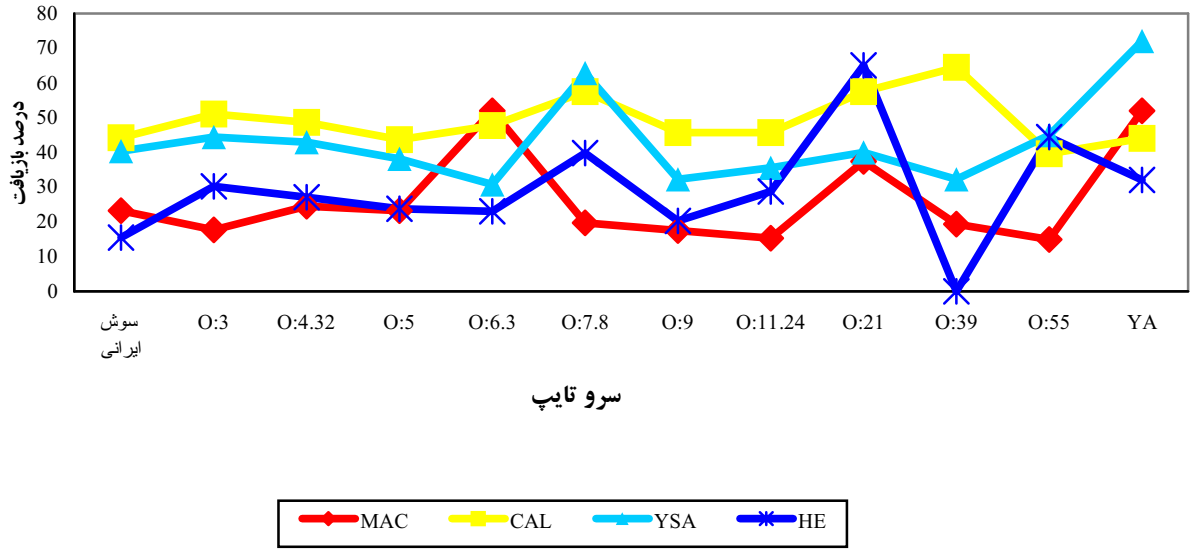


شکل ۱: درصد بازیافت سویه های خالص یرسینیا بر حسب سروتایپ نسبت به بلاد آگار

مرحله دوم: درصد میانگین قدرت مهاری محیط CIN آگار برای فلور مدفوع بیشترین مقدار آن با ۸۸/۲ درصد و برای MAC آگار کمترین مقداربا ۹ درصد بود. با استفاده ازآزمون‌های بالا بین CAL و YSA در مهارفلور مدفوع اختلاف معنی‌داری به دست نیامد.

مرحله سوم

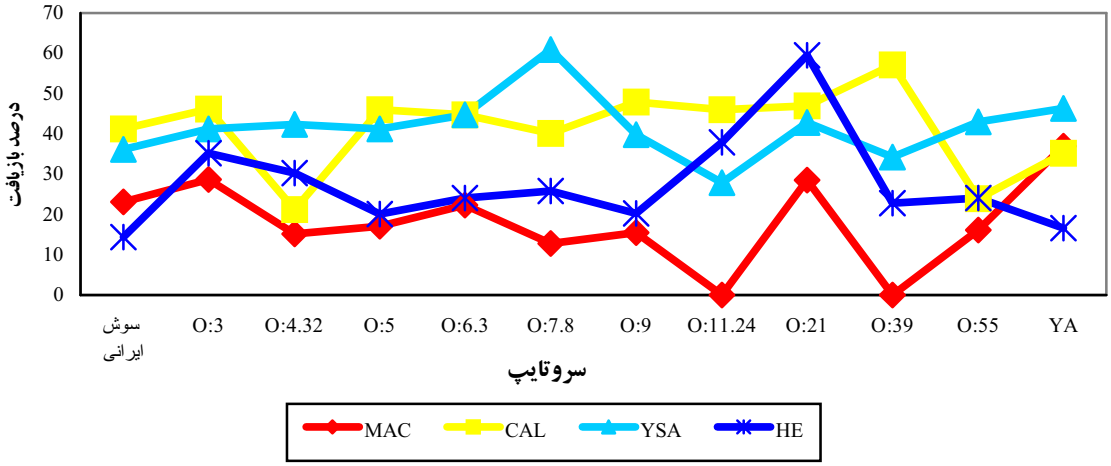
قسمت‌اول در رقت 10^{-2} مدفوع که حاوی 10^{4} Cfu/ml یرسینیا بود بالاترین درصد میانگین جداسازی بعد ازCIN متعلق بهCAL با ۴۷/۲ درصدوپایین‌ترین آن متعلق به MAC با ۲۱/۴بود. با استفاده از آزمون‌های یاد شده بین HEK باMAC وCAL باYSAاختلاف معنی‌داری از نظر بازیافت یرسینیا وجود نداشت(شکل۲).



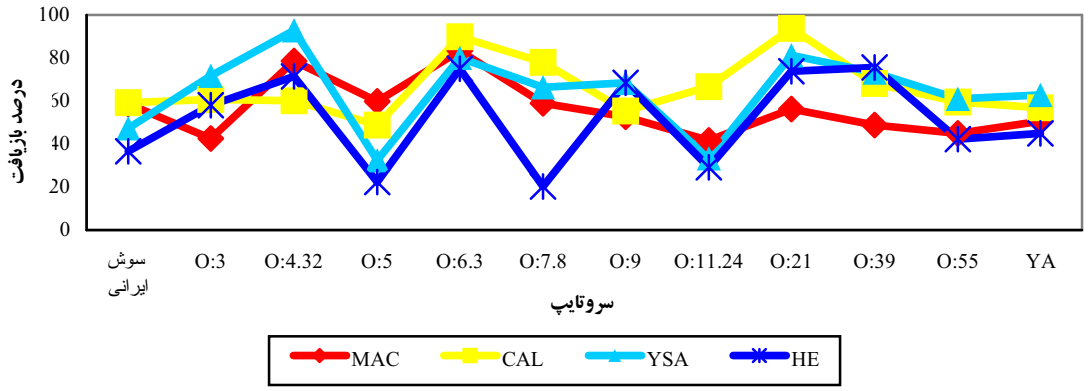
شکل۲ :درصد بازیافت یرسینیا از مدفوع در رقت 10^{4} یرسینیا و 10^{-2}مدفوع نسبت به CIN آگار

قسمت دوم : در رقت 10^{-2} مدفوع که حاوی 10^{3} Cfu/ml یرسینیا بوده، نتیجه‌ها تقریباً مشابه قسمت اول بود. بالاترین‌درصد جداسازی بعدازCIN متعلق بهCAL با۴۰/۷ درصد و پایین‌ترین مربوط به MAC با ۱۷/۷ درصد بوده است(شکل ۳).

قسمت سوم : در رقت 10^{-7} مدفوع که حاویCfu/ml 10^{4} یرسینیا بود، درصد بازیافت از محیط CAL بیش از بقیه با ۵۶/۵ درصد و از محیط HEK کمتر از سایرین با ۴۰ درصد بود. محیط‌های CAL ، YSA و MAC به ترتیب دارای رشد بهتری به نسبت HEK بودند. آزمون‌های آماری اختلاف معنی دار بین CAL و HEK را نشان دادند(شکل ٤)



شکل ۳: درصد بازیافت یرسینیا از مدفوع در رقت 10^{3} یرسینیا و 10^{-2} مدفوع نسبت به CIN آگار



شکل ٤: درصد بازیافت یرسینیا از مدفوع در رقت 10^{4} یرسینیا و 10^{-7} مدفوع نسبت به CIN آگار

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه ثابت شد که استفاده از یک محیط با قدرت انتخابی و افتراقی بالا برای جدا سازی یرسینیا از نمونه‌های بالینی چند میکروبی بخصوص مدفوع باعث افزایش سرعت بازیافت ودقت تشخیص می‌شود و محیط CIN آگار با توجه به نتیجه آزمون‌های آماری محیطی با قدرت انتخابی، افتراقی و حساسیت بالا شناخته شد. زیرا محیط CIN در کشت خالص سویه های یرسینیا ، در ممانعت از رشد فلور مدفوع وجداسازی یرسینیا از مدفوع بالاترین درصد بازیافت را داشته است .

تقریباً در مطالعه‌ای مشابه در سال ۱۹۸۳ توسط Schiemann ۵ محیط CAL ، BSA ، MAC، DHI و CIN در بازیابی کشت خالص سویه هایY. enterocolitica بررسی شد که نشان داد CIN بالاترین درصد جداسازی را داشته است .(۱۱)

در مرحله اول آزمایش در کشت خالص سویه های یرسینیا انتروکولیتیکای پاتوژن و غیر پاتوژن و گونه های مشابه، میانگین درصد بازیافت بر محیط CIN در مقایسه با محیط های دیگر بیشتر بود و این به قدرت حساسیت و انتخابی بودن بالای این محیط برمی گردد .

همچنین در سال۱۹۶۹ Nilehn ، در ۱۹۷۳ Wauters، در ۱۹۸۲ Head و در سال ۲۰۰۰ Giang ثابت کردند که محیط CIN محیطی است که در جداسازی نمونه های چند میکروبی قدرت انتخابی و افتراقی بالایی دارد.

در این مطالعه ثابت شد که برخی سوش‌ها روی بعضی از محیط ها رشد خوب و بر محیط های دیگر رشد کمتری دارند و این خود می تواند بستگی به خصوصیت‌های سوش یا محیط انتخابی بکار رفته داشته باشد. مثلا روی محیط MACسوش‌های O:3 و O:9 و O:8 از سوش‌های پاتوژن و سوش O:5 نسبت به بقیه محیط ها رشدکمتری داشتند و همچنین سوش‌های O:7/8 و O:11/24 روی HEK و سوش 10K/34 روی YSA از رشد کمتری برخوردار بوده اند.

و چون بقیه محیط ها به اندازه CIN از قدرت انتخابی و حساسیت بالایی برخوردار نیستند و در بازیافت یرسینیا نسبی و ضعیف‌تر عمل می کنند. ولی محیطMAC با توجه به یافته ها از قدرت خوبی در بازیافت سویه های خالص یرسینیا برخوردار است و این به علت قابلیت این محیط برای رشد اکثر باکتری‌های گرم منفی است که در مرحله‌های بعدی آزمایش با دخالت فلور مدفوع این قابلیت کاهش می یابد .

در سال ۱۹۷۸ Mehiman ثابت کرد که محیط MAC دارای قدرت انتخابی پایینی در بازیافت سویه‌های

Y. enterocolitica است(۸).

در قسمت دوم مطالعه ثابت شد که محیط CIN به علت توان انتخابی بالا در مقایسه با سایر محیط ها از قدرت خوبی برای مهار رشد فلور مدفوع برخوردار است و محیط های CAL ، YAS و HEK هم به نسبت‌های متفاوت این قدرت مهاری را دارند که در مقایسه با CIN کمتر است. در هر یک از محیط ها با توجه به خصوصیت‌ها و ترکیب آنها مواد مهار کننده رشد بسیاری از باکتری‌ها وجود دارد که آنها را برای رشد سری دیگر انتخابی و اختصاصی می کند. در اینجا دو محیط MAC و HEK با توجه به یافته ها از قدرت بالاتری برای رشد فلور مدفوع برخوردارند و در نتیجه درصد ممانعت از رشد فلور مدفوع در آنها نسبت به سایر محیط ها کمتر است واین نشان‌دهنده پایین‌تر بودن قدرت انتخابی و حساسیت آنها نسبت به بقیه محیط هاست .در مقایسه بین مرحله اول وسوم یافته ها نشان می دهد که محیط های CIN و MAC به ترتیب در بازیافت خالص این باکتری از قدرت خوبی برخوردار بوده اند. اما در مرحله سوم بیشترین بازیافت بعد از CIN متعلق به CAL بود و این میزان جداسازی در مقایسه با بازیافت سوش‌های خالص و همچنین میزان جداسازی یرسینیا از مدفوع در محیط MAC به طور چشمگیری کاهش یافته است و با توجه به نتایج مرحله دوم کاری که محیط MAC از توانایی کمی در مهار فلور مدفوع برخوردار است، می‌توان پی برد که فلور مدفوع بر رشد و بازیافت سویه های مختلف یرسینیا اثر دارد و کاهش بازیافت آنها را کاهش می‌دهد. مطالعه‌های Head تاییدکننده این مطلب است(٤).

با توجه به یافته های مرحله سوم می توان گفت که دو محیط CAL و YSA و دو محیط HEK وMAC دوبه دو با هم اختلاف چندانی از نظر قدرت انتخابی در بازیافت گونه‌های یرسینیا ندارند و با توجه به یافته های مرحله دوم وسوم‌می‌توان گفت دو محیط MAC و HEKدر بازیافت‌ارگانیسم‌های دیررشدی مانند یرسینیا از نمونه‌های کلینیکی مانند مدفوع که با شمار بالایی از فلور مدفوع همراه است کارایی مناسبی ندارند. محیط های CAL و YSA دارای کارایی‌نسبی‌در بازیافت‌گونه‌های‌یرسینیاهستند. همچنین باتوجه به‌یافته‌های مرحله‌دوم وسوم‌آزمایش‌محیط CAL نسبت به MAC وHEK محیطی‌انتخابی وحساس‌تر است. اما درمقایسه‌باCIN زمانی که تعداد یرسینیا در نمونه کم باشد ممکن است نتواند آن را به خوبی بازیافت کند.

پس اگر بتوان میزان فلور روده را با رقیق‌سازی مدفوع و یا استفاده از KOH کاهش داد، می توان گفت که MAC (قسمت سوم از مرحله سوم آزمایش) در بازیافت یرسینیا نسبت به HEK بهتر عمل می کند.

منابع

1.Ahvonen P.Human Yersiniosis in Finland .II. Clinical Features. Ann Clin Res 1972; 110:2204-2208.

2. Aldova E, Cerna J. Yersinia Enterocolitica and Its Demonstration in Food. Czech Hyg 1975; 20:395-403.

3. Dony JGC, et al. Entichment Procedure and Plating Media for Isolation of Y Enterocolitica. J Food protect 2000; 63(1): 1483-1486.

4.Head CoB, et al. Comparative Study of Selective Media for Recovery of Y. Enterocolitica. y.Clin Microbiol 1982; 4(16): 615-621.

5.Hanua MO, Zink DL. Y.enterocolitica Like Organisms Isolated from Vacuum Packaged Beef and Lamb. J Food Sci 1976; 41: 1254-1256.

6.Hurvell B. Zoonotic Yersinia Enterocolitica Infection: Host Range, Clinical Manifestations, and Transmission Between Animals and Man. In : Bottene EJ(ED). Yersinia Enterocolitica. Boca Raton, Florida :CRC Press, 1981: 145-159.

8.Inoue M, Kurose M. Isolation of Y.enterocolitica from Cow's Intestinal Contents and Beef Meat. JPn J Vet Sci 1975; 37: 91-93.

9.Mehiman, et al. Problems in the Recovery And Identification of Yersinia from Food. J Assoc Off Anal Chem 1978; 61: 761-771.

10. Murray P, Baron E, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington: American Society Microbiology,1999.

11.Nilhen B. Studies on Yersinia Enterocolitica: Growth on Various Solid Media at 37°c and 25°c .

Acta Pathol Microbiol Scand 1969; 77 : 685-697.

12. Schiemann DA. Comparision of Enrichment and Plating Media for Recovery of Virulent Strains of Y. enterocolitica from Inoculated Beef Stew. J Food Protect 1983; 46(11). 957-964.

13. Sonnen AG, Weaver RE, Yersinia Enterocolitica. N Engl J Med 1970; 283: 1468.

14.Yersin A. La Peste Bubonique a Hong Kong. Ann Inst Pasteur Paris 1894; 8: 662-667.

15.Wauters G. Improved Methods for the Recognation of Yersinia Enterocolitica, Contrib. Microbiol Immunol 1973; 2: 48-70.

Comparative Study of Selective Media for Recovery of Pathpgenic Yersinia Enterocolitica and Yersinia Enterocolitica –like species From Direct and Stool Culture

Bahmani N., Soltane Dalal M.M.

Abstract

Introduction: Yersinia is a gram negative bacteria and member of the family enterobactericeae. Pathogenic Y.enterocoliticace is significant cause of human disease in many parts of the world.

Objective: Three objectives were followed in this study: 1) determined ability of different media in pure growth of yersinia strains, 2) determine the ability of different media in suppression of fecal flora and 3) assessing the ability of these medias in recovery of yersinia from experimentally inoculated stool specimens.

Materials and methods: This study contains three phases that at the first phase 42 suspensions of pure yersinia strains inoculated to CIN agar, Mac conkey agar (MAc). Cellobiose, Arginia, lysine Agar (CAl), yersinia selective Agar (YSA), Hekton Entric Agar (HEk) and blood Agar (BA), then recovery rate was compared with BA. At the second phase 20 suspensions of stool specimens without diarrhea was inoculated on above medias and its suppression rate was compared with BA. At the third phase suspension of mixed stool from phase two was diluted with 10-2 and 10-7 and 31 yersinia stains and two dilution rate of 103 and 104 Cfu/ml was added and rate of yersinia was compared with CIN agar.

Results: At the first phase, maximum mean growth of pure culture yersinia strains belonged to CIN (89.5%) & minimum growth was on Hek (45.7%). At the second phase, maximum suppression rate belonged to CIN (88.2%) & minimum was MAC (9%) and at the third phase maximum recovery rate was on CAL (47.2%) and minimum was on HEk(20.2%&24.1%) and MAC(17.7%&21.4%).

Conclusion: Statistical calculation and Bonferroni test indicated that CIN agar compared with other four medias is a highly selective and differential medium with high sensitivity. Our results indicated that fecal flora decreases recovery of enteric pathogens from stool specially Y. enterocalitica and use of high selective medium in laboratory significantly increases isolation of Y.enterocolifica and Y.enterocolitica -like species from multibacteria specimens like stool.

Key words: Culture Media/ Yersinia / Yersinia Enterocolitica