

# مقایسه محیط های انتخابی در بازیافت یرسینیا انتروکولی تیکا پاتوزن و گونه های

## 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: ۸۲/۶/۱۱

تاریخ پذیرش: ۸۲/۱۰/۱۳

### چکیده

مقدمه: یرسینیا یک باکتری گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه می باشد. یرسینیا انتروکولیتیکی پاتوزن عامل مهم بیماری های انسانی در بسیاری از نقاط جهان می باشد.

هدف: در این مطالعه سه هدف دنبال می شود: ۱- تعیین توانایی محیط های کشت مختلف در رشد سوبه های خالص یرسینیا انتروکولیتیکی ۲- تعیین توانایی محیط های کشت مختلف در مهار رشد فلور مدفوع ۳- بررسی توانایی این محیط ها در بازیافت یرسینیا از مدفوع که به طور تجربی به آن اضافه شده است.

مواد و روش ها: مرحله اول شامل سوسپانسیون هایی از ۴۲ سویه گونه های 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 سوسپانسیون هایی از ۲۰ نمونه مدفوع نرمال (بدون اسهال) به صورت مخلوط تهیه شد و روی محیط های فوق کشت داده شد و درصد بازدارندگی محیط ها برای فلور مدفوع نسبت به BA محاسبه شده در مرحله سوم به سوسپانسیون هایی از مخلوط مدفوع مرحله دوم با دو رقت  $10^{-2}$  و  $10^{-7}$  تعداد ۳۱ سویه از یرسینیا با گونه ها مختلف با دو غلظت  $10^3$  و  $10^4$  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 (۴۵/۷ درصد) بوده است. در مرحله دوم درصد میانگین مهار 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 (۴۷/۲ درصد) و کمترین مربوط به HEK (۲۴/۱ درصد) و MAC (۲۱/۴ و ۱۷/۷ درصد) بوده است.

نتیجه گیری: محاسبات آماری و استفاده از آزمون تعقیبی Bonferroni نشان می دهد که CIN آگار در مقایسه با ۴ محیط کشت دیگر یک محیط با قدرت انتخابی، افتراقی با حساسیت بالا است و نتایج ما نشان می دهد که فلور روده باعث کاهش بازیافت پاتوزن های روده ای مانند یرسینیا انتروکولی تیکا از مدفوع میشود و استفاده از یک محیط با سلکتیویته بالا در آزمایشگاه باعث افزایش جداسازی یرسینیا انتروکولی تیکا و گونه های مشابه آن از نمونه های چند میکروبی مانند مدفوع می شود.

کلید واژه ها: انتروکولیتیکی یرسینیا / محیط کشت / یرسینیا

### مقدمه

۱۸۹۴ توسط 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 پاتوزن روده ای با طیف وسیعی از تظاهرات بالینی ایمونولوژیک مطرح است.

جنس یرسینیا از خانواده انتروباکتریاسه شامل سه گونه پاتوزن انسانی به نام های Y. enterocolitica، Y. pseudotuberculosis، Y. pestis است در حالی که گونه های محیطی فرصت طلب هستند و شامل: y. bercovieri، y. kristenseni، y. intermedia، y. frederiksenii، y. aldovae، y. ruckeri، y. rohdei، y. mollaretii می باشند. (۹)

Y. pestis، ارگانیزم عامل طاعون است که در سال

بود.

از همه نمونه ها در فسفات بافر با  $\text{pH} = 7/2$  در شرایط استریل سوسپانسیون تهیه شد و کدورت آن با استاندارد 0/5 مک فارلند مقایسه شد.

### نمونه های مدفوع

۲۰ نمونه از ارگانسیم های غیربیماریزا انتخاب شدند که از نظر ماکروسکوپی اسهال و از لحاظ میکروسکوپی لکوسیت نداشتند در نهایت نمونه ها روی محیط SS برای بررسی باکتری های گرم منفی بیماریزا و بر محیط CIN برای یافتن یرسینیا بررسی شدند و در فسفات بافر آنها به صورت Pooled (مخلوط) سوسپانسیون تهیه شد.

### محیط های کشت

سفسولیدین ایبرگازان نئوبوسین آگار (CIN)، سلویوز آژرنین لیزین آگار (CAL)، یرسینیا سلکتیو آگار (YSA)، مک کانکی آگار (MAC)، هکتون انتریک آگار (HEK) و بلاد آگار (BA) بودند.

### روش آزمایش

محیط های انتخابی در سه مرحله آزمایش شدند: مرحله اول: توانایی محیط های انتخابی در حمایت از رشد سویه های خالص یرسینیا بررسی شد. ۴۲ سویه خالص یرسینیا پس از آماده سازی و تعیین رقت مناسب با رقت  $10^4$  CFU/ml روی محیط های کشت انتخابی و با رقت  $10^2$  CFU/ml روی BA به میزان  $10^1$  میکرولیتر به صورت دوپلیکیت کشت داده شدند. بعد از انکوباسیون، همه پلیت ها در ۲۵ درجه سانتیگراد و به مدت ۴۸ ساعت، تعداد کلنی ها روی همه محیط ها شمارش و درصد بازیافت یرسینیا نسبت به BA محاسبه شد.

مرحله دوم: توانایی محیط های انتخابی در مهار رشد فلور مدفوع بررسی شد. ماده تلقیحی به محیط کشت، همان نمونه های رقیق شده مدفوع در فسفات بافر بود که وقتی  $10^1$  میکرو لیتر از آن به محیط کشت BA تلقیح شود بتواند  $10^1$  تا  $500$  کلنی بر روی آن ایجاد کند. بعد از کشت همه محیط ها به صورت دوپلیکیت و انکوباسیون آنها در ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت، درصد بازدارندگی فلور

*Y. enterocolitica* یک عامل بیماریزای ناشی از مصرف مواد غذایی است و می تواند در درجه حرارت یخچال رشد کند. این میکروب از موادی مانند گوشت خوک، گاو، گوسفند (۷ و ۵) شیرخام و انواع سبزی ها (۲) جدا شده است. خوک مهم ترین مخزن سویه های ویرولان آن است (۶).

این باکتری عامل سندروم های متعدد روده ای و خارج روده ای با شدت های متفاوت است شامل: انتریت، ایلینت انتهایی، لنگادیت مزانتریک با ایجاد پسودو آپاندیسیت و بیماری های ایمونولوژیک مانند آرتریت، اریتما، سندروم رایتر، گلمرولونفریت، میوکاردیت و... ایجاد عفونت بیشتر با سروگروپ O:3 و O:9 است (۹).

ممکن است فراورده های آلوده خونی هم باعث سپتیمی یرسینیایی بشوند سپتیمی با ۵۰ درصد مرگ و میر در افراد دچار نقص ایمنی گزارش شده است (۱۲).

Schiemann در سال ۱۹۸۳ پنج محیط BSA، CAL، MAC، DHI و CIN را در بازیابی کشت خالص سویه های *Y. enterocolitica* بررسی کرد و نشان داد که CIN بالاترین درصد جداسازی را دارد (۱۱).

در سال ۱۹۶۹ Nilehn، در ۱۹۷۳ Wauters، در ۱۹۸۲ Head و در ۲۰۰۰ Jiang ثابت کردند که محیط CIN در جداسازی نمونه های چند میکروبی قدرت انتخابی و افتراقی بالایی دارد.

Head و همکاران در سال ۱۹۸۲ سوش های مختلفی از یرسینیا را روی محیط های 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 (۴).

### مواد و روش ها

#### ارگانسیم های مورد بررسی

۴۲ سویه از سروتایپ های مختلف یرسینیا در ایران و فرانسه از آب، شیر و انسان جدا شد که شامل: (4) O:3، (1) O:4/32، (5) O:5، (1) O:6، (1) O:6/30، (2) O:7/8، (2) O:8، (4) O:9، (1) O:21، (1) O:39، (2) O:55، (1) O:11/24، (2) AA:2 و سوش های ایران (13)، (1) 10K34

قسمت دوم: مانند قسمت 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 قسمت های مرحله سوم تست ها به صورت دوپلیکیت کشت داده شدند.

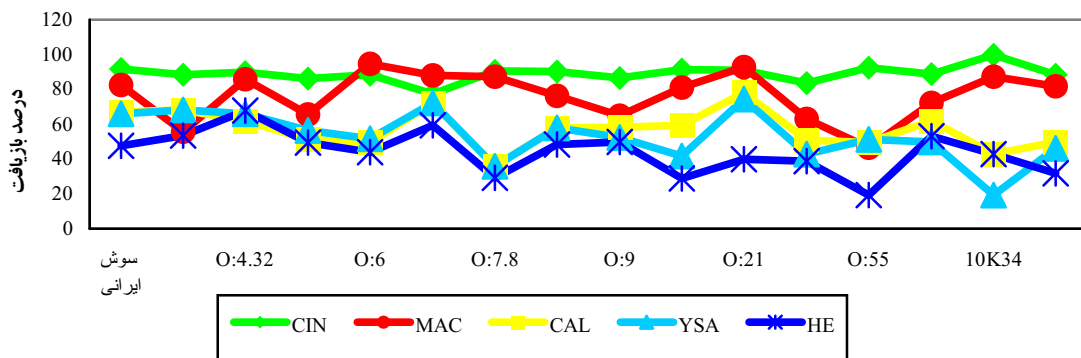
### نتایج

در مرحله اول، محیط CIN بیشترین درصد رشد با میانگین ۸۹/۵ درصد و محیط HEK کمترین درصد رشد بامیانگین ۴۵/۷ درصد را داشته است. با استفاده از محاسبه های آماری مانند آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی BONFERRINI نشان داده شد که بین محیط های CAL, YSA از نظر آماری اختلاف معنی داری در باز یافت سویه های خالص یرسینیا وجود نداشت، ولی بین بقیه محیط ها اختلاف معنی دار بود (شکل ۱).

مدفوع توسط محیط ها به عنوان درصد اختلاف شمارش کلنی بدست آمده از BA و محیط های انتخابی بیان شد.

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

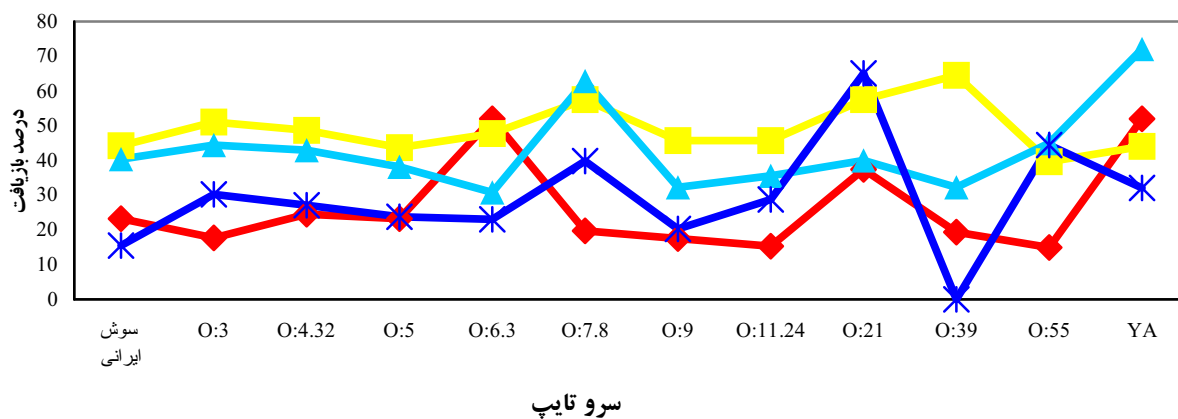
قسمت اول: به رقت های ۲-۱۰ مدفوع به مقدار ۰/۱ ml از سوسپانسیون های ۳۱ سویه یرسینیا با غلظت Cfu/ml ۱۰۴ اضافه شد و از این سوسپانسیون ۰/۱ ml به صورت استریل روی محیط های مورد نظر کشت داده شد. بعد از انکوباسیون در ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت برای کلنی هایی که از نظر مرفولوژی شبیه یرسینیا بودند تست اوره و ONPG انجام شد در مثبت شدن هر دو تست، تعداد کلنی ها شمارش و درصد باز یافت یرسینیا از روی محیط ها نسبت به CIN محاسبه می شد.



شکل ۱: درصد باز یافت سویه های خالص یرسینیا بر حسب سرو تایپ نسبت به بلاد آگار

قسمت اول در رقت ۱۰<sup>-۲</sup> مدفوع که حاوی ۱۰<sup>۴</sup> Cfu/ml یرسینیا بود بالاترین درصد میانگین جداسازی بعد از CIN متعلق به CAL با ۴۷/۲ درصد و پایین ترین آن متعلق به MAC با ۲۱/۴ بود. با استفاده از آزمون های یاد شده بین HEK با MAC و CAL با YSA اختلاف معنی داری از نظر باز یافت یرسینیا وجود نداشت (شکل ۲).

مرحله دوم: درصد میانگین قدرت مهاری محیط CIN آگار برای فلور مدفوع بیشترین مقدار آن با ۸۸/۲ درصد و برای MAC آگار کمترین مقدار با ۹ درصد بود. با استفاده از آزمون های بالا بین CAL و YSA در مهار فلور مدفوع اختلاف معنی داری به دست نیامد. مرحله سوم

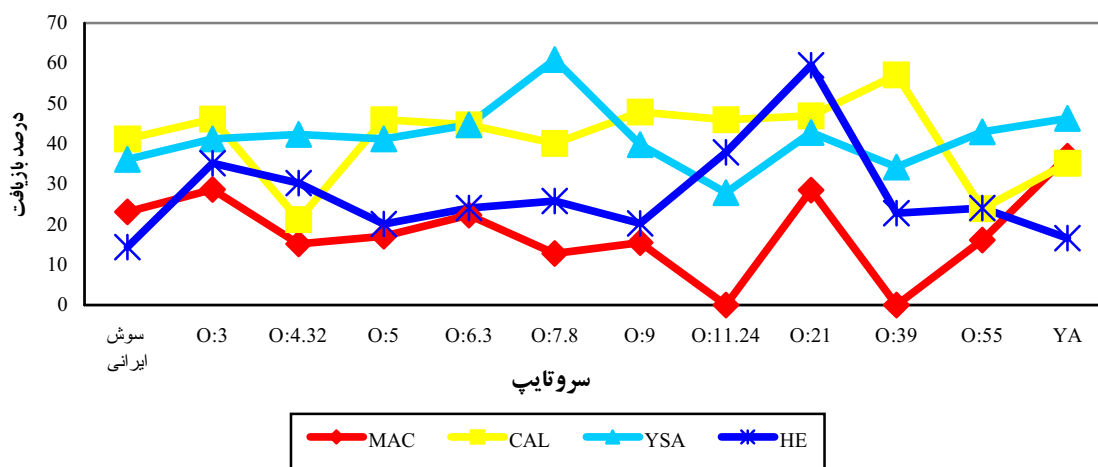


شکل ۲: درصد بازیافت یرسینیا از مدفوع در رقت  $10^4$  یرسینیا و  $10^{-2}$  مدفوع نسبت به CIN آگار

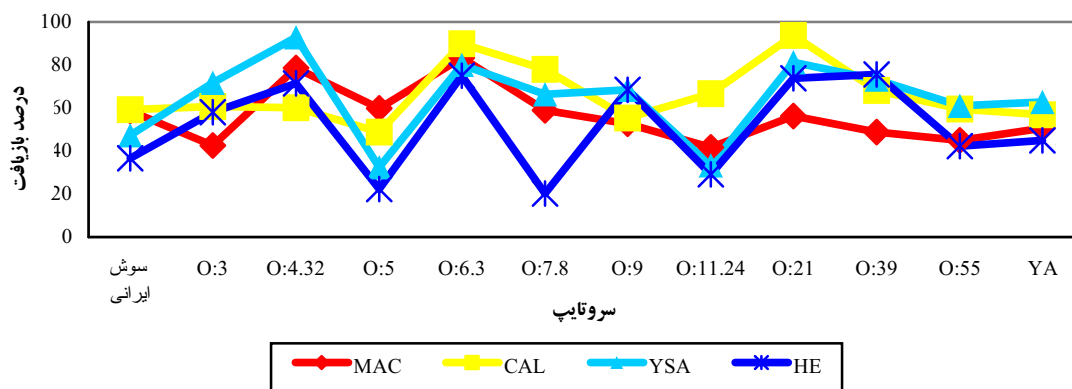
$10^4$  یرسینیا بود، درصد بازیافت از محیط CAL بیش از بقیه با ۵۶/۵ درصد و از محیط HEK کمتر از سایرین با ۴۰ درصد بود. محیط‌های CAL، YSA و MAC به ترتیب دارای رشد بهتری به نسبت HEK بودند. آزمون‌های آماری اختلاف معنی دار بین HEK و CAL را نشان دادند (شکل ۴)

قسمت دوم: در رقت  $10^{-2}$  مدفوع که حاوی  $10^3$  Cfu/ml یرسینیا بوده، نتیجه‌ها تقریباً مشابه قسمت اول بود. بالاترین درصد جداسازی بعد از CIN متعلق به CAL با ۴۰/۷ درصد و پایین‌ترین مربوط به MAC با ۱۷/۷ درصد بوده است (شکل ۳).

قسمت سوم: در رقت  $10^{-7}$  مدفوع که حاوی Cfu/ml



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



شکل ۴: درصد باز یافت 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 نمونه های بالینی چند میکروبی بخصوص مدفوع باعث افزایش سرعت باز یافت ودقت تشخیص می شود و محیط CIN آگار با توجه به نتیجه آزمون های 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 باز یافت را داشته است.

تقریباً در مطالعه ای مشابه در سال ۱۹۸۳ توسط Schieman Y. enterocolitica ۵ محیط CAL، BSA، MAC، DHI و CIN در باز یابی کشت خالص سویه های یرسینیا بررسی شد که نشان داد CIN بالاترین درصد جدا سازی 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 باز یافت 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 سال ۱۹۶۹ 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 سوش ها روی بعضی از محیط ها رشد خوب و بر محیط های دیگر رشد کمتری دارند و این خود می تواند بستگی به خصوصیت های سوش یا محیط انتخابی بکار رفته داشته باشد. مثلاً روی محیط MAC سوش های O:3 و O:9 و O:8 از سوش های پاتوژن و سوش O:5 نسبت به بقیه محیط ها رشد کمتری داشتند و همچنین سوش های 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 باز یافت یرسینیا نسبی و ضعیف تر عمل می کنند. ولی محیط MAC با توجه به یافته ها از قدرت خوبی در باز یافت سویه های خالص یرسینیا برخوردار است و این به علت قابلیت این محیط برای رشد اکثر باکتری های گرم منفی است که در مرحله های 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 باز یافت سویه های

نتایج مرحله دوم کاری که محیط MAC از توانایی کمی در مهار فلور مدفوع برخوردار است، می توان پی برد که فلور مدفوع بر رشد و بازیافت سویه های مختلف یرسینیا اثر دارد و کاهش بازیافت آنها را کاهش می دهد. مطالعه های Head تاییدکننده این مطلب است (۴).

با توجه به یافته های مرحله سوم می توان گفت که دو محیط CAL و YSA و دو محیط HEK و MAC دوه دو با هم اختلاف چندانی از نظر قدرت انتخابی در بازیافت گونه های یرسینیا ندارند و با توجه به یافته های مرحله دوم و سوم می توان گفت دو محیط MAC و HEK در بازیافت ارگانسیم های دیررشدی مانند یرسینیا از نمونه های کلینیکی مانند مدفوع که با شمار بالایی از فلور مدفوع همراه است کارایی مناسبی ندارند. محیط های CAL و YSA دارای کارایی نسبی در بازیافت گونه های یرسینیا هستند. همچنین با توجه به یافته های مرحله دوم و سوم آزمایش محیط CAL نسبت به HEK و MAC محیطی انتخابی و حساس تر است. اما در مقایسه با CIN 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 رقیق سازی 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.

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 نسبت های متفاوت این قدرت مهاری را دارند که در مقایسه با CIN کمتر است. در هر یک از محیط ها با توجه به خصوصیت ها و ترکیب آنها مواد مهار کننده رشد بسیاری از باکتری ها 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 و این نشان دهنده پایین تر بودن قدرت انتخابی و حساسیت آنها نسبت به بقیه محیط هاست. در مقایسه بین مرحله اول و سوم 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 سوش های خالص و همچنین میزان جداسازی یرسینیا از مدفوع در محیط MAC به طور چشمگیری کاهش یافته است و با توجه به

## منابع

- Ahvonon P. Human Yersiniosis in Finland .II. Clinical Features. Ann Clin Res 1972; 110:2204-2208.
- Aldova E, Cerna J. Yersinia Enterocolitica and Its Demonstration in Food. Czech Hyg 1975; 20:395-403.
- Dony JGC, et al. Enrichment Procedure and Plating Media for Isolation of Y Enterocolitica. J Food protect 2000; 63(1): 1483-1486.
- Head CoB, et al. Comparative Study of Selective Media for Recovery of Y. Enterocolitica. y.Clin Microbiol 1982; 4(16): 615-621.
- Hanua MO, Zink DL. Y. enterocolitica Like Organisms Isolated from Vacuum Packaged Beef and Lamb. J Food Sci 1976; 41: 1254-1256.
- 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.
- Inoue M, Kurose M. Isolation of Y. enterocolitica from Cow's Intestinal Contents and Beef Meat. JPN J Vet Sci 1975; 37: 91-93.
- Mehiman, et al. Problems in the Recovery And Identification of Yersinia from Food. J Assoc Off Anal Chem 1978; 61: 761-771.
- 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. Comparison 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 Recognition of Yersinia Enterocolitica, Contrib. Microbiol Immunol 1973; 2: 48-70.

## Comparative Study of Selective Media for Recovery of Pathogenic *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 enterobacteriaceae. Pathogenic *Y. enterocolitica* 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, Arginina, 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<sup>-2</sup> and 10<sup>-7</sup> and 31 *Yersinia* stains and two dilution rate of 10<sup>3</sup> and 10<sup>4</sup> 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. enterocolitica* and use of high selective medium in laboratory significantly increases isolation of *Y. enterocolitica* and *Y. enterocolitica* -like species from multibacteria specimens like stool.

**Key words:** Culture Media/ *Yersinia* / *Yersinia Enterocolitica*