مجله دنیای میکروب ها
سال دوم، شماره یک، ۱۳۸۸
صفحات ۴۷-۳۷

Original Article

معرفی محیط سوربیتول مکانکی آگار تغییر یافته (ICT-SMAC) به منظور تشخیص وشناسایی باکتری اشریشیا کلی O157 از گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه شیراز

دکتر یحیی تهمتن*[1]، معصومه حیاتی[1]، دکتر محمد مهدی نام آوری[1] ، دکتر غلامرضا موذنی[1]

[1]بخش باکتری شناسی- موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شیراز

چکیده

سابقه و هدف: باکتری اشریشیاکلی O157 برروی محیط سوربیتول مک کانکی آگار ایجادکلنی های بی رنگ می کند. برخی باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه موجود در روده نیز بر روی این محیط کلنی های مشابه ایجاد می کنند. بنابر این به منظور جداسازی این باکتری بهبود و اصلاح محیط سوربیتول مک کانکی آگار ضروری است. هدف از این پژوهش بهینه سازی محیط یاد شده به منظور شناسایی دقیق‌تر این باکتری می‌باشد.

مواد و روش ها: تعداد ۲۵۰ سوآپ مدفوعی گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه شیراز جهت جداسازی باکتری اشریشیاکلی O157 انتخاب شد. سپس محیط سوربیتول مک کانکی آگار با آنتی بیوتیک های سفکسیم و تلوریت پتاسیم بترتیب از ۰/۰۵ و۲/۵ میلی گرم در لیتر (یک استاندارد) تا شش برابر این میزان (۶ استاندارد) غنی شد. پلیت محتوی آنتی بیوتیک های یاد شده از یک استاندارد تا ۶ استاندارد تهیه شد. در هر مرحله مقدار مشخص سویه استاندارد EDL933 باکتری اشریشیاکلی O157 به هر پلیت تلقیح شد و یک شب در ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری گردید.

یافته ها: اشریشیاکلی O157 بر روی پلیت های از یک استاندارد تا ۶ استاندارد رشد کرد. اما پلیت های یک استاندارد تا ۳ استاندارد، تعدادکلنی های نسبتا یکسانی داشتند. کاهش باکتری های روده ای در پلیت های با آنتی بیوتیک بیشترکاملا مشخص بود. میزان ۲ و ۴ درصد آلودگی در محیط کشت معمول و حاوی سه برابر استاندارد آنتی بیوتیک به ترتیب، حساسیت بالای محیط دوم را نشان می دهد.

نتیجه گیری: با استفاده از محیط کشت با آنتی بیوتیک بیشتر میزان زیادی از باکتری‌های روده ای حذف خواهد شد. بنابر این استفاده از محیط کشت سوربیتول مک کانکی آگار غنی شده با مقادیر ۱/۵ و ۷/۵ میلی گرم در لیتر به ترتیب از سفکسیم و تلوریت پتاسیم توصیه می‌شود.

واژه های کلیدی: اشریشیاکلی O157، سوربیتول مک کانکی آگار تغییر یافته، سفکسیم، تلوریت پتاسیم

دریافت مقاله: پاییز ۸۷ پذیرش برای چاپ: بهار ۸۸

مقدمه

اشریشیا کلی O157:H7 از باکتری های منتقل شونده به وسیله موادغذایی است که اولین بار در سال ۱۹۸۲ به عنوان پاتوژن انسانی شناخته شد (۱۴). سالانه حدود۲۰۰۰۰ تا ۴۰۰۰۰ موارد آلودگی با این باکتری درایالات متحده گزارش شده که اغلب آنها منجربه سندروم خونریزی ادراری (Hemolytic uremic syndrome) می شود (۱۷). این باکتری می تواند در دستگاه گوارش نشخوارکنندگان سالم مانند گاو (۱)، گوسفند (۸)، بز (۴) وحتی حیوانات وحشی (۱۵) رشدکند. اغلب موارد بیماری درنتیجه آلودگی با محصولات گاوی مثل گوشت نیم پخته گاو (۵) وشیرخام گاو (۱۸) است. مهمترین فاکتورحدت این باکتری توکسینی بنام شیگاتوکسین است به همین دلیل به این باکتری نیز اشریشیا کلی تولید کننده

*)آدرس برای مکاتبه: شیراز، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، بخش باکتری شناسی،
تلفن: ۰۷۱۱-۶۲۴۰۳۳۱ فکس: ۰۷۱۱-۶۲۴۰۲۰۱
پست الکترونیک: yahyatahamtan@yahoo.com

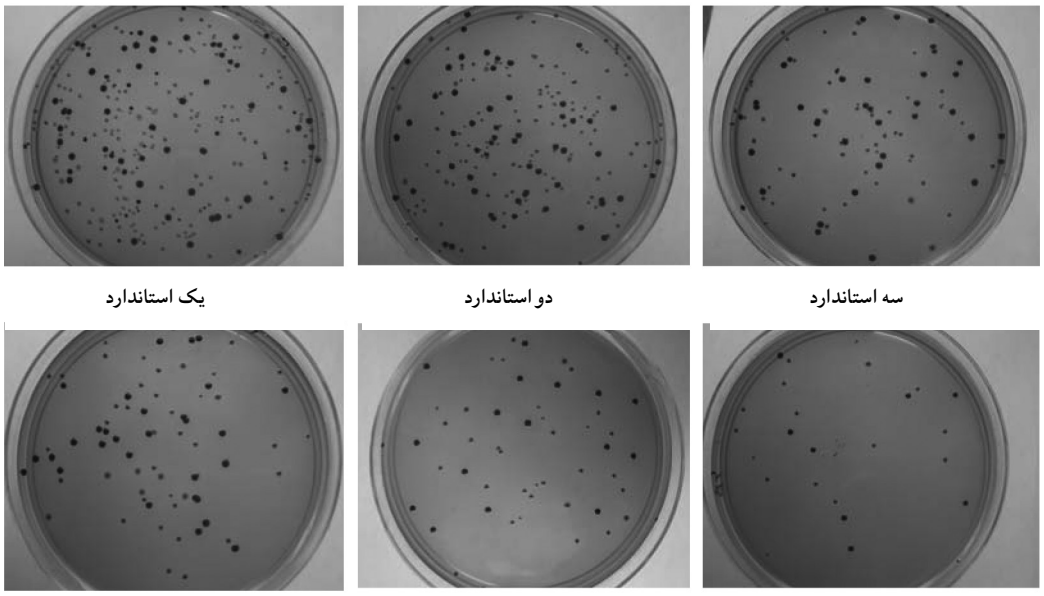
شیگا توکسین (Shiga toxin producing *E. coli*) می‌گویند (۹). آلودگی گوشت با این باکتری از طریق مدفوع درطول عملیات کشتارگاهی و فرآوری گوشت، مهمترین راه انتقال این پاتوژن به زنجیره غذایی است (۱). روش‌های متعددی مانند ایمنولوژیکی، رشد در رده سلولی ورو (Assay Vero Cell)، واکنش های زنجیره پلیمراز وکشت های اختصاصی برای تشخیص و شناسایی این باکتری بکاربرده می‌شود (۱۳). یکی از محیط کشت هایی که به طور وسیع به عنوان محیط انتخابی برای باکتری بکار می‌رود SMAC است (۱۰). این محیط محتوی ۱۰٪ سوربیتول بجای لاکتوز در محیط کشت مک کانکی است (۱۶). این محیط به عنوان اولین محیط کشت اختصاصی جهت جداسازی وشناسایی این باکتری بکار می‌رود. پس از رشد، باکتری برروی این محیط کلنی‌های بی رنگ تولید می‌کند که ناشی از عدم تخمیر قند سوربیتول موجود دراین محیط است. به همین دلیل این کلنی ها از سایرکلنی‌های صورتی رنگ باکتری های روده ای قابل تمایز می‌باشد. برخی باکتری های خانواده انتروباکتریاسه موجود در مدفوع گاو مانند هافنیا، پرووتئوس، پرووِیدنشیا، انتروباکتر و سایر سویه های اشیرشیاکلی نیز روی این محیط کلنی های بی رنگ تولید می کنند و از نظر آنتی ژنی با *O*157 قرابت دارند، از این رو تغییر و بهبود این محیط جهت تفکیک باکتری اشریشیا کلی *O*157:*H*7 از باکتری های روده ای یاد شده از نظر تشخیص بسیار مهم می باشد. انواع تغییرات برروی محیط SMAC ممکن است انجام شود تا بعنوان یک محیط انتخاب گر وجداسازخوب بکاربرود. سفکسیم وتلوریت پتاسیم دو ترکیبی هستند که اجازه رشد به اشریشیاکلی *O*157 می دهند، اما از رشد سایر باکتری های روده ای ممانعت می نمایند. به همین دلیل از ترکیبات یاد شده در تهیه محیط کشتICT-SMAC (Sorbitol McConkey Agar Improved Ceffexime Tellurte) استفاده می شود (۱۱).

هدف از این پژوهش بهینه سازی محیط کشت CT-SMAC باتوجه به میزان معین ومشخص سفکسیم وتلوریت به نحوی است که بتواند حداکثر اثر مهاری بر روی رشد سایر باکتری های روده ای و حداقل تاثیر بر روی خود باکتری اشریشیا کلی *O*157 داشته باشد.

مواد و روش ها

محیط کشت سوربیتول مک کانکی آگار به شرح زیرتهیه شد: مقدار مناسب مک کانکی آگار پایه بدون لاکتوز ساخت شرکت دیفکو وقند D-sorbitol ساخت دیفکو را به حجم یک لیتررسانده واتوکلاو نموده قبل ازسردشدن کامل محیط یعنی زمانیکه دما تقریبا به ۵۰ درجه سانتی گراد برسد آنتی بیوتیک ها اضافه می شوند.

در این تحقیق از محیط SMAC غنی شده با آنتی بیوتیک های سفکسیم و تلوریت پتاسیم بترتیب از ۰/۰۵ و ۲/۵ میلی گرم در



سه استاندارد | دو استاندارد | یک استاندارد

شش استاندارد | پنج استاندارد | چهار استاندارد

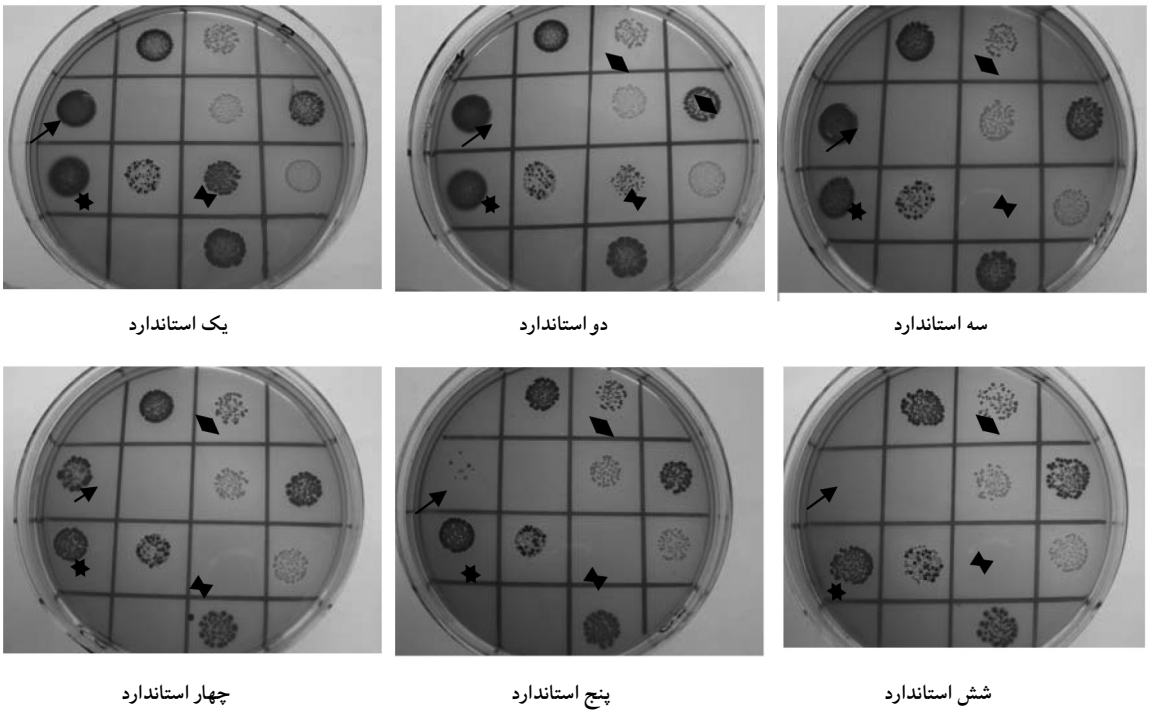
شکل ۱: رشد 10^3 باکتری بر روی پلیت. کاهش نامحسوس باکتری‌ها تا سه استاندارد.

لیتر (یک استاندارد) تا شش برابر این میزان (۶ استاندارد) استفاده شد. دو سری پلیت شش تایی محتوی آنتی بیوتیک های مذکور از یک استاندارد تا ۶ استاندارد تهیه شد. در مرحله اول 10^3 باکتری اشریشیا کلی EDL933 *O157* به هر پلیت تلقیح شد. در مرحله دوم ۵۰ میکرولیتراز 10^3 باکتری از ۵ نوع باکتری غالب در روده گاو به طور جداگانه به هر پلیت تلقیح شد. در سومین مرحله 10^2 باکتری از هر پنج نوع باکتری به صورت مخلوط در پلیت ها کشت داده شد. در هر مرحله پلیت ها یک شب در ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

در مرحله بعد تعداد ۱۰ پلیت CT-SMAC با میزان سفکسیم و تلوریت معمولی یعنی ۰/۰۵ و ۲/۵ میلی گرم در لیترو ۱۰ پلیت با میزان سه برابر یعنی ۱/۵ و ۷/۵ میلی گرم در لیتر تهیه شد. تعدادمشخص باکتری بصورت سریال از 10^1 تا 10^9 آماده و پس از تلقیح به مدفوع هموژنیزه شده گاو، یک سی سی از عصاره بر روی محیط ها کشت داده شد. پس از استاندارد شدن روش، طی یک دوره شش ماهه در سال ۸۷ ضمن مراجعه به کشتارگاه مرکزی شیراز از ۲۵۰ راس گوسفند ذبح شده نمونه گیری بعمل آمد. نمونه ها با سواپ استریل گرفته شد و پس از انتقال به محیط تریپتیک سوی براث (TSB) شرکت Merck با حفظ زنجیره سرد به آزمایشگاه باکتری شناسی موسسه رازی شیراز ارسال گردید. نمونه‌های مذکور پس از یک شب گرمخانه گذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد با دو روش در دو گروه محیط SMAC با آنتی بیوتیک معمول یعنی ۰/۰۵ و ۲/۵ (گروه اول) و سه برابر استاندارد ۱/۵ و ۷/۵ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای سفکسیم و تلوریت (گروه دوم) مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس نتایج بر اساس آنالیز واریانس و تست فیشر دقیق (Fisher's exact) با استفاده از نسخه ۱۱/۵ نرم افزار *SPSS* مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مرز معنی داری در $p>0/05$ قرار داده شد.

یافته ها

رشد باکتری ها برروی محیط کشت CT-SMAC حاوی مقادیر یک استاندارد و شش استاندارد مقایسه شد. اگر چه باکتری اشریشیا کلی *O157* بر روی هر شش پلیت ازیک استاندارد تا ۶ استاندارد رشد کرد اما در مرحله اول، پلیت های یک استاندارد تا ۳ استاندارد، تعداد کلنی های نسبتا یکسانی داشتند (تصویر ۱). در مرحله دوم برخی باکتری ها حتی در پلیت ۳ استاندارد بطور کلی محو شده بودند (تصویر ۲). اما نتایج تست تکمیلی در مرحله سوم نشان دادکه تعداد باکتری اشریشیاکلی *O157* درکشت مخلوط در پلیت ۳ استاندارد بسیار مشخص و بدون تغییرکلی بود، در حالی‌که سایر باکتری های روده ای بشدت کاهش داشتند (تصویر ۳).



سه استاندارد | دو استاندارد | یک استاندارد

شش استاندارد | پنج استاندارد | چهار استاندارد

شکل ۲: کاهش و از بین رفتن برخی باکتریهای روده ای حتی در پلیت سه استاندارد (توجه به علامتها).

جدول ۱: میزان ردیابی باکتری در دو محیط CT-SMACبا مقادیر ۰/۰۵ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر وسه برابر سفکسیم و تلوریت پتاسیم.

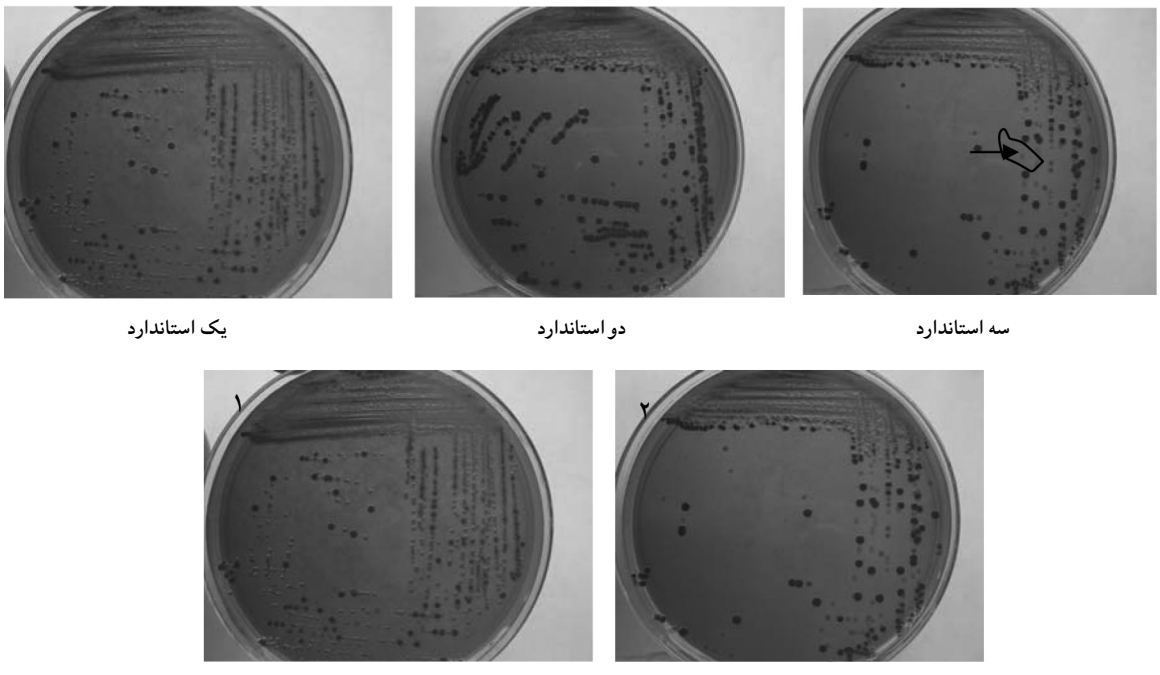
تعداد باکتری (CFU)*	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	10^8	10^9
محیط اول	-	-	+	+	+	+	+	+	+
محیط دوم	-	+	+	+	+	+	+	+	+

*Colony Forming Unit

همچنین رشد باکتری برروی محیط کشت CT-SMAC حاوی مقادیر ۰/۰۵ و ۲/۵ میلی گرم سفکسیم وتلوریت بامقادیر ۱/۵ و ۷/۵ میلی گرم درلیترمقایسه شد. درهر دو محیط تلقیح شده، مدفوع حاوی 10^1 باکتری هیچگونه کلنی بی رنگ که نشان دهنده باکتری اشریشیا کلی O157 باشد، مشاهده نشد. اما در محیط حاوی مقادیر سه برابر معمول سفکسیم و تلوریت، از تعداد 10^2 باکتری در مدفوع به بعد کلنی ها به وضوح قابل تشخیص بودند، اما درمحیط سری اول از پلیت تلقیح شده با 10^3 باکتری در مدفوع، کلنی ها قابل مشاهده بودند. کلنی های بی رنگ نشانگر باکتری اشریشیا کلی O157 استاندارد است که به محیط تلقیح شده است وسایرکلنی ها نشان دهنده باکتری های روده ای است که درمدفوع وجود داشتند (جدول ۱). اختلاف آماری بین دو گروه معنی دار بود($P<$ ۰/۰۵). از ۲۵۰ نمونه مورد آزمایش با هر دو روش نتایج به شرح زیر بدست آمد. در روش اول (آنتی بیوتیک استاندارد) تعداد ۵ نمونه (۲٪) مثبت اشریشیا کلی O157 (مثبت) بدست آمد. در حالی که با استفاده از روش دوم (آنتی بیوتیک سه استاندارد) از ۱۰ نمونه (۴٪) باکتری جدا گردید.کلنی های جدا شده مجددا برروی SMAC خالص گردید و با استفاده از آنتی سرم اختصاصی O157 تائید شد(تصویر ۴).

بحث

در این تحقیق نقش محیط بهبود یافته سوربیتول مک کانکی آگار مورد بررسی قرار گرفت. اگر چه ممکن است تعداد کمی از باکتری های اشریشیا کلی O157 از دست برود اما حجم زیادی از سایر باکتری های روده ای که تشخیص و تفکیک را بسیار مشکل می سازد، حذف خواهد شد. بنابراین پیشنهاد می گردد از محیط سوربیتول مک کانکی آگار غنی شده با سفکسیم و تلوریت پتاسیم به ترتیب دارای مقادیر ۱/۵ و ۷/۵ میلی گرم در لیتر به جای میزان



سه استاندارد | دو استاندارد | یک استاندارد

پنج استاندارد | چهار استاندارد

شکل ۳: کاهش باکتری‌های روده ای در کشت مخلوط باکتری (↗*E. coli* O157).

جدول ۲: موارد مثبت در گروه اول با میزان معمول آنتی بیوتیک و گروه دوم با سه برابر آنتی بیوتیک.

تعداد نمونه	درصد مثبت در گروه اول	در صد مثبت در گروه دوم
۴۲	۱	۱
۴۵	۱	۲
۷۰	۲	۳
۵۵	۱	۳
۳۸	۰	۱

معمول یعنی ۰/۰۵ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر استفاده شود. این تحقیق که برای اولین بار صورت گرفت، برای اطمینان هر مرحله چهار بار نیز تکرار شد. مقایسه رشد باکتری استاندارد در دو محیط مورد استفاده نشان داد که در محیط دوم که میزان سفکیسم وتلوریت بیشتری داشت، تفکیک وتمایز باکتری ازسایرباکتری های روده ای آسان‌تر می‌باشد. به همین دلیل می‌توان از آن با توجه به دوز عفونی بسیار پایین باکتری، به منظور تشخیص مقادیر اندک باکتری اشریشیا کلی تولید کننده شیگا توکسین استفاده نمود. در میزان ۲درصدآنتی بیوتیک به دلیل رشد سایر باکتری‌های روده‌ای، تشخیص اشریشیا کلی O157 مشکل بود، اما، اثر مهاری آنتی بیوتیک بر روی سایر باکتری های روده ای در میزان ۴ درصد بیشتر بود. با توجه به حجم زیاد باکتری‌های روده ای در گروه اول تجمع باکتری بسیار زیاد و تفکیک نیز بسیار مشکل است. در گروه دوم با توجه به مقدار زیادتر آنتی بیوتیک، اثر مهاری آن بر سایر باکتری ها کاملا مشهود است (جدول ۲). افزایش میزان تلوریت خودبه تنهایی ممانعت کننده رشد باکتری‌هایی مانند هافنیا، انتروباکتر و پروتئوس است که کلنی های تقریبا مشابه اشریشیا کلی O157 تولید می کنند (۱۱). برخی باکتری‌های روده‌ای برروی O157 اثر مهاری دارند. محیط‌های غنی کننده باعث افزایش باکتری ها در محیط کشت می‌شوند و در نتیجه تشخیص مقادیر واقعی O157 دچارمشکل می گردد. استفاده از آنتی بیوتیک تا سه برابر استاندارد با حذف مقادیر بیشتر سایر باکتری‌های روده ای، اثر مهاری آنها برروی O157 برداشته خواهد شد و در نتیجه مقادیر واقعی باکتری‌های O157 قابل تشخیص خواهند بود (۱۹).

برخی از این باکتری ها دربعضی از اپی‌توپها با O157 قرابت آنتی ژنی دارند، اما دربرابر میزان بالای تلوریت حساس هستند (۶، ۷). درهمین رابطه Sandra وهمکاران در ۱۹۸۶ میزان ۰/۱۵-۰/۱ میلی گرم سفکسیم و ۵-۷/۵ میلی گرم تلوریت درلیتر به محیط SMAC اضافه نمودند که نتایج نشان داد محیط بسیارخوبی جهت تمایزباکتری اشریشیا کلی O157:H7 ازسایرباکتری‌ها است (۹). نتایج ما نیز در این پژوهش مشابه محققین یادشده نشان داد که افزودن ۳ برابر معمول بازدارنده‌ها (۱/۵ میلی گرم سفیکسیم و ۷/۵ میلی گرم در لیتر تلوریت) بهترین شرایط را برای انتخابی شدن محیط کشت فراهم می‌سازد.

روش غنی سازی اولیه و سپس استفاده از محیط کشت انتخابی مثل SMAC توسط محققین دیگر نیز استفاده شده است (۱و۱۲). باتوجه به مطالعات Chapman وهمکاران درسال ۲۰۰۱ که محیط CT-SMAC را یک محیط انتخابی مناسب جهت این باکتری می‌داند، اضافه کردن مقادیرسه برابری سفکسیم وتلوریت دقت وحساسیت این محیط در شناسائی اشریشیا کلی O157 را تا ۴ برابر افزایش داد (۲و۳). در مطالعه حاضر افزودن سه برابری آنتی‌بیوتیک های سفکسیم و تلوریت پتاسیم به محیط اختصاصی سوربیتول مک کانکی آگار، دقت و حساسیت این محیط برای تشخیص و جداسازی باکتری اشریشیا کلی O157 را تا ده برابر افزایش داد. به همین دلیل استفاده از محیط تغییر یافته یاد شده برای شناسایی اولیه باکتری در نمونه های مواد غذایی و نمونه های بالینی توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از سرکار خانم میترا دبیری کارشناس میکروب‌شناسی به دلیل دقت فراوان و همکاری در این پژوهش کمال سپاسگزاری را دارند.

References

1. Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG. Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli O*157*:H*7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. Epidemiol Rev 2002;18:29-51.
2. Chapman PA, Ellin M, AshtonR, Shafique W. Comparison of culture, PCR and immunoassays for detecting *Escherichia coli O*157 following enrichment culture and immunomagnetic separation performed on naturally contaminated raw meat products. International Journal of Food Microbiol 2001;68:11-20.
3. Garcia-Aljaro C, Muniesa M, Jofre J, Blanch AR. Prevalence of the *stx2* Gene in Coliform Populations from Aquatic Environments. Appl Environ Microbiol 2004;70:3535-3540.
4. Gun H, Yilmaz A, Turker S, Tanlasi A, Yilmaz H. Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by *Escherichia coli O*157*:H*7 in Istanbul International Journal of Food Microbio 2003;84:339-344.
5. Heuvelink AE, Van Den Biggelaar FLAM, Boer EDE, Herbes RG, Melchers WJG, Huis In't Veld JHJ, et al. Isolation and Characterization of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli O*157 Strains from Dutch Cattle and Sheep. J Clin Microbiol 1998;36(4):878-882.
6. Karch H, Bielaszewska M, Bitzan M, Schmidt H. Epidemiology and Diagnosis of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Infections. Diag Microbiol Infec Dise 1999;34:229-243.
7. Karch H, Meyer T, Russmann H, Heesemann J. Frequent loss of Shiga-like toxin genes in clinical isolates of *Escherichia coli* upon subcultivation. Infec Immun 1999;60:3464-3467.
8. Kudva IT, Hatfield PG, Hovde CJ. *Escherichia coliO*157*:H*7 in microbial flora of sheep. J Clinl Microbiol 1996;34:431-433.
9. March SB, Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli O*157*:H*7 associated with hemorrhagic colitis. J Clinl Microbiol 1986; 23: 869-872.
10. Marks S, Roberts T. *E. coli O*157*:H*7 ranks as the fourth most costly foodborne disease. Food Safety1993;1:51-55.
11. Okrend AJG, Rose BE. Bennett B. A screening method for the isolation of *Escherichia coli O*157*:H*7 from ground beef. J Food Protec 1993;53:249-252.
12. Park CH, Hixon DL, Morrison WL, Cook CB. Rapid diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli O*157*:H*7 directly from fecal specimens using immunofluorescence stain. Ama J Clinl Pathol 1994;101:91-94.
13. Philips CA. The epidemiology, detection and control of *Escherichia coli O*157. J Sci Food Agri 1999;79:1367-1381.
14. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. New Eng J Med 1983; 308:681-685.
15. Renter DG, Sargeant JM, Oberst RD, Samadpour M. Versity, Frequency, and Persistence of *Escherichia coli O*157 Strains from Range Cattle Environments. Appl Environ Microbiol 2003;69(1):542-547.
16. Smith HR, Scotland SM. Isolation and identification methods for *Escherichia coli O*157 and other Vero cytotoxin producing strains. Jl Clin Pathol 1993;46:10-17.
17. Urdahl AM, Beutin L, Skjerve E, Zimmermann S, Wasteson Y. Animal host associated differences in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from sheep and cattle on the same farm. J Appl Microbiol 2003;95:92-101.
18. Vernozy-Rozand C, Mazuy-Cruchaudet C, Bavai C, Montet MP, Bonin V, Dernburg A, Richard Y. Growth and survival of *Escherichia coli O*157*:H*7 during the manufacture and

ripening of raw goat milk lactic cheeses. Int J Food Microbiol 2005;105:83-88.
19. Wales AD, Woodward MJ, Pearson GR: Attaching-effacing Bacteria in Animals. J Comp Path 2005;132:1-26.

Journal of Microbial World
Volume 2, No. 1, 2009

Improved Sorbitol MacConkey Agar Medium Containing Cefixime and Potassium Tellurite for Isolation and Diagnosis of *E. coli O*157*:H*7 from clinical case

Yahya Tahamtan[1], Masomeh Hayati[1], Mohammad Mehdi Namavari[1], Gholam Reza Moazeni[1]

[1]Department of Bacteriology vaccine and serum research institute of Razi, Shiraz, Iran

Abstract:

*Introduction and Objectives: E. coli O*157*:H*7 form colorless colonies on SMAC and may be distinguished from intestinal flora. Some Enterobacteriaceae present in gut, also grow on SMAC and are difficult to differentiate and diagnose. Therefore modification and improvement of SMAC medium is necessary to select *E. Coli O*157. The aim of this study is to improve this medium in order to differentiate this bacterium better.

Material and Methods: 250 fecal swab sheep slaughtered in slaughterhouses Shiraz to isolate the bacteria *E. coli O*157 was selected. Prepared SMAC plates containing from 0.05 mg L-1 ceffexime and 2.5 mg L-1 potasium tellurite as standard (1S) to 6 time standard (6S). Certain pure *E. coli O*157 EDL933 was plated on SMACs. All plates incubated in 37°C over night.

*Results: E. coli O*157 was grown on all six SMACs, but all plates had grown with the same count in 1S to 3S plats. Some bacteria decreased according to dose of antibiotics. Two and four percent contamination rate was shown high sensitivity in 3 S than 1 S. use of media with high antibiotic deleted extra intestinal bacteria.

Conclusion: We recommend using ICT-SMAC medium supplemented with 1.5 and 7.5 mg L-1 ceffexime and potassium tellurte respectively in spite of current SMAC to isolate *E. coli O*157 from clinical case.

*Keyword: E.coli O*157, CT-SMAC, Ceffexime, Potassium tellurite

Correspondence to: Yahya Tahamtan
Tel: (+98)7116240331
Fax: (+98)7116240201
Email: yahyatahamtan@yahoo.com
Journal of Microbial World 2009, 2(1), 37-43