مجلة العلوم الزراعية والبيئية والبيطرية
العدد الرابع – المجلد الثاني
ديسمبر 2018 م
ISSN: 2522- 3364

المجلة العربية للعلوم و نشر الأبحاث
Arab Journal of Sciences & Research Publishing
AJSRP

تقييم وسط زرعي جديد محضر لتنمية بكتريا *Escherichia coli* وسلالتها O157: H7

محسن أيوب عيسى

قسم علوم الحياة || كلية العلوم || جامعة الموصل || العراق

الملخص: تعد بكتريا E.coli من أهم أنواع البكتريا من الناحية الصحية والبيئية والتي تسبب مدى واسع من الأمراض المنتشرة عالميا وخاصة في الدول النامية، مما يستدعي البحث المستمر في تطوير الطرق المختلفة لتنمية وتشخيص هذه البكتريا، وقد استندت فكرة هذا البحث على استعمال لحوم الأسماك والتمر أساسا لتحضير أوساط زرعية متخصصة لهذه البكتريا وسلالاتها. أظهرت نتائج اختبار نمو العزلات المختلفة على الأوساط السائلة المحضرة أن افضل نمو كان في الوسط المحضر من مستخلصي السمك والتمر معا، إذ تفوق على الوسط القياسي المرق المغذي Nutrient broth، كما تفوق هذا الوسط على الأوساط القياسية MacConkey broth و Lauryl tryptose brothفي التحري عن التلوث البكتريولوجي للماء بعد أن أظهر التغير اللوني للوسط وتكوين الغاز خلال (9، 6) ساعات فقط على التوالي، كما امكن تحضير وسط زرعي تفريقي صلب لبكتريا E.coli مشابه لخصائص وسط agar MacConkey ظهرت فيه مستعمرات هذه البكتريا المخمرة للاكتوز وردية مقارنة بمستعمرات بكتريا Salmonella spp غير المخمرة له التي ظهرت شاحبة، وحضر وسط تفريقي صلب اخر للسلالة O157: H7 E.coli بالاستفادة من عدم قابليتها على تخمير سكر السوربيتول وإضافة صبغة احمر الفينول ولوحظ قدرة الوسط المحضر الواضحة على التفريق بين هذه السلالة وبقية العزلات المخمرة للسوربيتول التي غيرت لون الوسط إلى الاصفر. وقد استخدمت في هذا البحث كافة الطرق المختبرية اللازمة لتحضير الأوساط الزرعية وزراعة البكتريا وتقدير نموها على الأوساط المحضرة.

الكلمات المفتاحية: الأوساط الزرعية، لحوم الأسماك، التمر، E.coli O157: H7.

المقدمة

بقيت بكتريا E.coli تلعب دورا أساسيا في أهميتها الصحية على المستوى العالمي ليس لدورها الإمراضي فحسب بل لكونها إحدى مؤشرات التلوث البرازي المعتمدة والتي تستخدم وبصورة واسعة للكشف عن التلوث البكتريلوجي للمياه سواءً لوحدها أو ضمن مجموعة القولونيات Coliforms إذ تعتمد المقاييس الدولية على نسبة تواجدهما في المياه معياراً لصلاحية الماء للاستخدامات البشرية (WHO، Liang et al.؛ 2004، 2004) وتسبب معظم سلالات هذه البكتريا مجموعة من الأمراض للإنسان أهمها حالات الإسهال ومنها الإسهال الدموي الذي تسببه المجموعة النزفية Enterohemorrohagic E.coli (EHEC) وخاصة السلالة O157: H7 الذي أصبح خطرها متزايدا في الدول المتقدمة و النامية على حد سواء من خلال انتقالها بالماء و الأغذية الملوثة بها (Dunn et al.، Rangel et 2004; al.، Prescott et al. ; 2005، 2005).

ونظرا لأهمية بكتريا E.coli الآنفة الذكر فقد نالت الأوساط الزرعية المخصصة لتنميتها اهتماما كبيرا من قبل الباحثين لأجل تهيئة الأوساط الزرعية التفريقية والانتخابية الملائمة لعزلها وتشخيصها، إذ يعد استخدام الأوساط الزرعية اكثر طرق تشخيص الجراثيم اهمية ومصداقية، ويعد وسط أجار ماكونكي agar MacConkey الذي حضر من قبل MacConkey في عام 1905 أهم الأوساط المستعملة في عزل البكتريا المعوية المخمرة لسكر اللاكتوز ومنها بكتريا E.coli وتفريقها عن سواها التي لا تخمر هذا السكر وقد استخدمت فيه أملاح الصفراء أول مرة من أجل تثبيط نمو البكتريا الموجبة لصبغة كرام، بعدها توالت الدراسات المستمرة من أجل تحضير أنواع مختلفة من الأوساط الزرعية الانتقائية والتفريقية السائلة والصلبة لعزل وتشخيص هذه البكتريا(Baron et al.، 2007). وتعد

خاصية الكفاءة والكلفة الاقتصادية المنخفضة وتوفر مكونات الوسط من الميزات الإيجابية المهمة لصالح استخدام الوسط الزرعي. ومحليا اجرينا العديد من الدراسات التي استخدمت فيها بعض المستخلصات النباتية والحيوانية لتحضير أوساط زرعية لتنمية أنواع من البكتريا في محاولة للوصول إلى أوساط تحقق الميزات المذكورة (العكيدي، 2001؛ السبعاوي، 2005؛ العكيدي، 2009).

هدفت الدراسة الحالية إلى تحضير أوساط زرعية سائلة وصلبة كفؤة لتنمية وتشخيص بكتريا E.coli من مكونات متوفرة وذلك باستخدام كل من لحوم الأسماك والتمر أساسا لتحضير هذه الأوساط، واستخدمت كافة الطرق المختبرية اللازمة لتحضير الأوساط الزرعية وزراعة البكتريا وتقدير نموها على الأوساط المحضرة من أجل تحقيق هدف الدراسة.

المواد وطرائق العمل

1- المواد

العزلات الجرثومية:

استخدم في هذا البحث خمسة عزلات بكتيرية معزولة ومشخصة في قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصل / العراق، واحدة منها تعود للسلالة O157: H7 E.coli معزولة من الإدرار وثلاثة عزلات من بكتريا E.coli تعود لأنماط مصلية أخرى معزولة من البراز(S) والماء (W) واللحوم (M)، فضلا عن عزلة من بكتريا Salmonella spp معزولة من المياه.

الأوساط الزرعية:

أعتمد في تحضير الأوساط الزرعية على مستخلصي السمك والتمر والتي حضرت وكما يلي:

تحضير مستخلص السمك

حضر استنادا إلى (العكيدي، 2001) وكما يلي:

- أخذت الأسماك النهرية المحلية نوع الشبوط Barbus grypus (ازيلت الاحشاء والرأس والذيل والجلد والعمود الفقري والعظام للحصول على اللحم قدر الإمكان) غسلت جيداً ثم قطعت وفرمت.
- وزن اللحم الناتج من الخطوة السابقة وأضيف إليه ماء مقطر ضعف وزنه أي أن نصف كيلو من اللحم يضاف إليه لتر واحد من الماء المقطر.
- أضيف (0.6%) كاربونات الصوديوم و (7.5%) كلورفورم ومزجت جيداً، ووضع المزيج في الحاضنة بدرجة حرارة (37) م° لمدة (48) ساعة مع التحريك بين فترة وأخرى.
- رشح الناتج أكثر من مرة باستخدام الشاش وورق الترشيح وسخن بدرجة (100) م° لمدة نصف ساعة وضبط الأس الهيدروجيني عند 7.4، ثم برد لإزالة الطبقة الدهنية وعقم بالمعقام بدرجة (121) م° لمدة (15) دقيقة ورشح مرة ثانية، أعيد تعقيمه مرة ثانية ليصبح جاهزاً للاستخدام.

تحضير مستخلص التمر

حضر استنادا إلى (السبعاوي، 2005) وكما يلي:

- وزن (50) غم من التمر المحلي صنف الخستاوي Khistawi Variety المزال منه النوى وغسل جيداً وأضيف إلى لتر واحد من الماء المقطر والمعقم.
- وضع في الحاضنة بدرجة حرارة (37) م° مع مراعاة الرج اليدوي المتكرر مدة (24) ساعة.
- هرست المحتويات باليد هرساً جيداً ثم رشحت من خلال قطع الشاش وذلك للتخلص من الألياف النباتية ثم أخذ المستخلص وعرض للطرد المركزي بسرعة (6000) دورة لمدة (30) دقيقة باستعمال جهاز الطرد المركزي المبرد.
- رشح الراشح الناتج في الخطوة السابقة خلال ورق الترشيح Filter paper وذلك من اجل الحصول على وسط سائل رائق خال من العكارة وقد تم تعقيمه بالمعقام بدرجة (121) م° لمدة (10) دقائق وحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة (4) م° إلى حين الاستعمال.

تحضير وسط السمك ووسط السمك والتمر السائل

حضر وسط السمك السائل باستعمال مستخلص السمك المحضر في الخطوات السابقة لوحده، ولتحضير وسط التمر والسمك السائل مزج كل من مستخلص السمك ومستخلص التمر المحضرين سابقا بنسبة (70%) من مستخلص السمك و (30%) من مستخلص التمر بعدها عقمت وضبط الأس الهيدروجيني عند 7.4. ولغرض تحضير الأوساط السائلة في تجارب التحري عن تلوث المياه اضيف (0.09)غم من صبغة احمر الفينول Phenol red لكل 100 ملم من الأوساط السائلة (العكيدي، 2009)

تحضير وسط السمك التفريقي لتنمية بكتريا E.coli.

حضر هذا الوسط بإضافة سكر اللاكتوز واملاح الصفراء وصبغة الاحمر المتعادل Neutral Red والآجار إلى 100 مل من مستخلص السمك وحسب التراكيز المضافة إلى وسط آجار الماكونكي واستنادا إلى Ronald،(2004) وضبط الأس الهيدروجيني pH عند 7.2 وعقم بالمعقام.

تحضير وسط السمك التفريقي لتنمية السلالة E.coli O157: H7.

حضر بإضافة سكر السوربيتول واملاح الصفراء و صبغة أحمر الفينول Phenol red (بدلا من صبغة الأحمر المتعادل) والاجار إلى 100 مل من مستخلص السمك وحسب التراكيز المضافة إلى وسط Sorbitol- MacConkey Agar (SMAC) Medium واستنادا إلى Ronald،(2004) وضبط الأس الهيدروجيني pH عند 7.2 وعقم بالمعقام.

2- طرائق العمل

تنمية عزلات بكتريا E.coli على أوساط السمك والتمر السائلة.

أجري هذا الاختبار باستخدام وسط السمك ووسط السمك والتمر السائلين بدون أي إضافة، فضلا عن وسط المرق المغذي Nutrient broth(Oxoid) كوسط قياسي للمقارنة، وزعت الأوساط على قناني زجاجية سعة 10 مل وبعد التعقيم لقحت الأوساط الثلاثة ب 0.1 مل من معلق كل عزلة من عزلات بكتريا E.coliالأربعة (كثافة المعلق تقابل انبوبة ماكفارلاند رقم واحد القياسية التي تعادل بحدود 3×10^8خلية/مل) حضنت القناني بدرجة 37 مْ لمدة

24 ساعة، لوحظ النمو من خلال العكورة المتكونة وتم تقدير كثافة النمو بقياس الامتصاصية عند طول موجي 590 نانومتر وسجلت النتائج.

التحري عن التلوث البكتيري للمياه باستخدام أوساط السمك والتمر السائلة

استخدم في هذا الاختبار وسط السمك ووسط السمك والتمر السائلين المضاف لهما صبغة أحمر الفينول وقورنت مع وسطين قياسيين معتمدين في اختبارات تلوث المياه وهما MacConkey broth (Oxoid) و Lauryl tryptose broth(Oxoid)، إذ حضرت عينة ماء شرب حاوية 0.1- 0.2 مل من محلول ثايوسلفات الصوديوم(لإزالة الكلور) تم تلويثها مختبرياً بإضافة 1.0 مل من ماء المجاري إلى لتر من الماء، وحضرت بعدها 5 قناني سعة 10 مل لكل وسط حاوية أنابيب درهم، لقحت الأوساط المحضرة بنقل 1.0 مل من العينة الملوثة إلى هذه الأوساط (APHA، 2005). بعدها حضنت القناني بدرجة حرارة 37 °م وتم مراقبة النمو وتسجيل الملاحظات كل ساعتين وثبتت النتائج في حالة تغير لون الوسط السائل وتكون الغاز في الأوساط السائلة المدروسة.

النمو على أوساط السمك التفريقية الصلبة

استخدمت عزلات بكتريا E.coli وعزلة المقارنة بكتريا Salmonella spp لتلقيح وسط السمك التفريقي الصلب الخاص ببكتريا E.coli بطريقة التخطيط، كما لقح وسط السمك التفريقي المحضر للسلالة O157: H7 بطريقة التخطيط أيضا باستخدام عزلة هذه السلالة وبقية عزلات بكتريا E.coli للمقارنة، حضنت الأطباق بدرجة 37° م لمدة 24 ساعة ولوحظت النتائج وصورت.

النتائج والمناقشة

تقييم كفاءة أوساط السمك والتمر في نمو عزلات بكتريا E.coli المختلفة.

تعد بكتريا E.coli أكثر أنواع البكتريا السالبة لصبغة كرام التي تعزل وتشخص في مختبرات الأحياء المجهرية، كونها تسبب عدد كبير من الإصابات المرضية في أنحاء مختلفة من الجسم وتعزل من البيئات المختلفة بما فيها المياه والتربة (Baron et. al.، 2007)، لذا فإن هناك حاجة مستمرة في اكتشاف وتطوير الطرق المختلفة لعزل وتشخيص هذه البكتريا ومنها طرق الزرع المعتمدة على أوساط زرعية من أهم خصائصها أن تكون كفؤة وغير مكلفة وممكنة التحضير في كل وقت، وفي الدراسة الحالية حضرت أوساط زرعية اعتمدت على استخدام نوعين من المستخلصات هو مستخلص لحم السمك و مستخلص التمر التي اثبتت كفاءتها في تحضير أوساط زرعية في دراساتنا السابقة (السبعاوي 2005،العكيدي، 2001).

يبين الجدول (1) نتائج نمو اربعة عزلات مختلفة من بكتريا E.coli على ثلاث أوساط زرعية سائلة وهي الوسط المحضر من مستخلص السمك لوحده والوسط المحضر من مستخلصي السمك والتمر ووسط المرق المغذي كوسط قياسي للمقارنة، اذ يلاحظ أن جميع العزلات قد نمت بشكل افضل وبزيادة معنوية (عند مستوى معنوية 0.05) في حالة الوسط المحضر من مستخلصي السمك والتمر ولكنها تقاربت في كثافة نموها على الوسطين الاخرين وقد يعود السبب في أفضلية وسط السمك والتمر إلى أن مكوناته من مستخلص السمك الذي يمثل ببتوناً حيوانياً لابد أن يكون غنياً بالمغذيات وخاصة البروتينات (الأحماض الأمينية) التي تعد أساسية لنمو هذه البكتريا (Koneman et al.، 2006) وتعد الأسماك مصدرا غنيا للبروتينات عالية النوعية وأن هذه الأحماض الداخلة في تركيب لحوم الأسماك هي أكثر اهمية مقارنة مع الأحماض الأمينية التي تكون بروتينات البيض والحليب وبقية اللحوم، مع ملاحظة أن

التركيب الكيميائي للأسماك يختلف من نوع لآخر وضمن نفس النوع أيضا باختلاف نوعية الغذاء المتوفر لهذه الأسماك والأعماق والمواقع التي تعيش فيها والعمر والوزن والجنس والظروف البيئية (Bud et al, 2008)، وسمك الشبوط Barbus grypus المستخدم في هذه الدراسة يمتلك ثاني أعلى محتوى بروتيني(20.2%) ضمن الأسماك النهرية (الخلف و خريط، 2014).

كما أن تركيز السكريات في مستخلص التمر يبدو أنه كان ملائما لتوفير متطلبات هذه البكتريا من السكريات إذ يشكل السكر نسبة عالية من تركيب التمر بحدود 44- 88 % بالإضافة إلى المكونات الأخرى ومنها العناصر المعدنية 1.5- 2.5% (الفراجي، 2008)، ويلاحظ من النتائج في الجدول (1) أن إضافة السكريات إلى وسط السمك من خلال مستخلص التمر أعطى دعما للنمو مقارنة بوسط السمك لوحده علما أن الأخير بدوره كان مقاربا في كثافة النمو فيه مع وسط المرق المغذي وهذه تعد نتائج مهمة لصالح الأوساط المحلية المحضرة في هذه الدراسة، كما بينت النتائج عدم وجود فرق معنوي (عند مستوى معنوية 0.05) في نمو العزلات المدروسة على كل وسط لوحده باختلاف مصادر عزل هذه البكتريا.

الجدول (1): كثافة نمو عزلات بكتريا *E.coli* (الامتصاصية بالنانومتر) على الأوساط الزرعية السائلة المدروسة.

نوع العزلة	كثافة النمو (الامتصاصية بالنانومتر)		
	وسط السمك	وسط السمك والتمر*	وسط المرق المغذي
***E.coli* O157: H7**	0.503	0.623	0.543
***E.coli* (S)**	0.487	0.702	0.585
***E.coli* (W)**	0.415	0.699	0.472
***E.coli* (M)**	0.552	0.724	0.649

*= وجود زيادة معنوية(عند مستوى معنوية 0.05) في نمو جميع عزلات البكتريا المدروسة على هذا الوسط مقارنة ببقية الأوساط

ان مستخلصي السمك والتمر ممكن أن يكونا أساسا لتحضير الوسط الزرعي السائل كما حصل في الدراسة الحالية ويمكن تحويله إلى الشكل الصلب بإضافة مادة الاجار اليه كما يمكن تحويله إلى أوساط انتقائية وتفريقية بإضافة مواد مثبطة أو صبغات كاشفة تخدم عزل وتشخيص بكتريا محددة، كما أن كل من الأسماك والتمور متوفرة محليا وفي متناول اليد خاصة في البلدان العربية مما يجعل تحضير الأوساط الزرعية المرتبطة بها سهلا وغير مكلفا فضلا عن كفائتها في تنمية البكتريا.

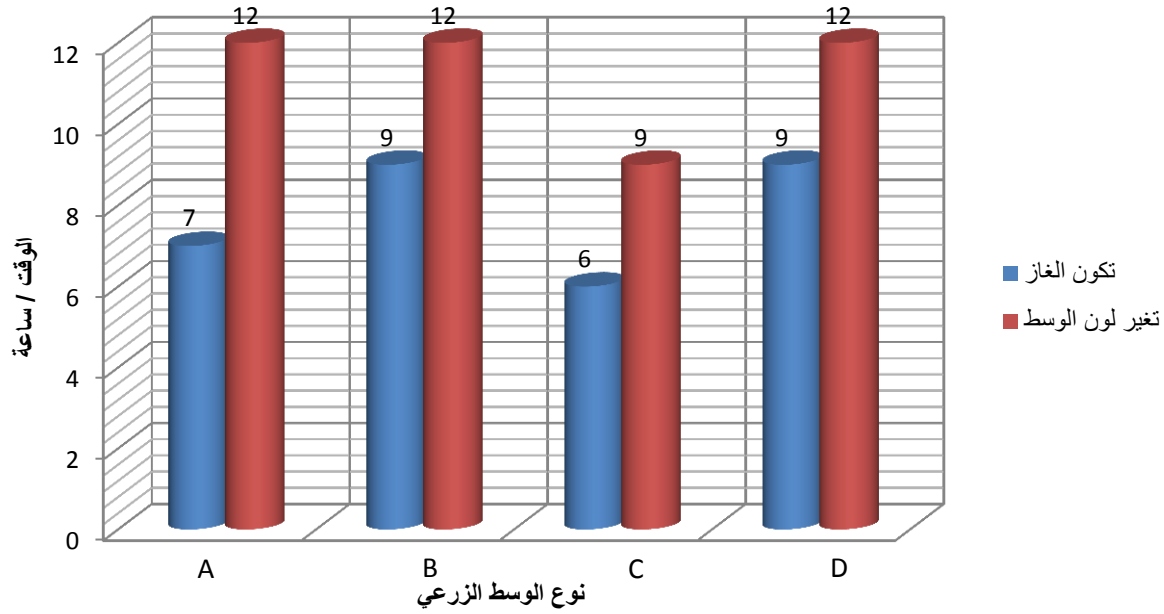
تقييم كفاءة أوساط السمك والتمر في التحري عن التلوث البكتيري للمياه.

اعتمدت فكرة هذه الاختبار على أساس مقارنة سرعة الكشف عن تلوث عينة الماء من خلال ملاحظة تغير لون الوسط وتكوين الغاز في انبوبة درهم، باستخدام الوسطين السائلين السمك لوحده والسمك والتمر المضاف اليهما كاشف احمر الفينول Phenol red، مقارنة بأوساط زرعية تجارية معتمدة في اختبارات التلوث البكتريولوجي للمياه وهما وسط مرق الماكونكي MacConkey broth الذي يعدّ من الأوساط المهمة والمستخدمة في اختبارات التحري عن البكتريا القولونية التي عند نموها على هذا الوسط تؤدي إلى تغير لونه من الأحمر إلى الوردي، أما الوسط الزرعي الثاني هو وسط Lauryl tryptose broth الذي يستخدم أيضا في الاختبارات البكتريولوجية لفحوصات المياه أيضاً للكشف عن بكتريا القولون إذ يتحول من اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر عند نمو هذه البكتريا عليه (APHA، 2005).

ويوضح الشكل (1) نتائج المقارنة بين هذه الأوساط بعد تلقيحها بعينة ماء ملوثة حيث يلاحظ أن أفضل نتيجة كانت في حالة وسط السمك والتمر السائل الذي كان الأسرع في إظهار نتيجة تكون الغاز خلال (6 ساعات) وكذلك في إظهار التغيير اللوني في الوسط خلال (9 ساعات) ويبدو أن احتواءه على الببتون الحيواني من مستخلص السمك ودعمه بالسكريات اللازمة من خلال مستخلص التمر كان له دور فعال في دعم النمو وإظهار النتيجة السريعة. ويلاحظ أن وسط السمك لوحده كان مكافئاً لكل من وسط MacConkey broth ووسط Lauryl tryptose broth في إظهار نتيجة التغيير اللوني للوسط خلال (12 ساعة)، واظهار الغاز خلال(9 ساعات) عدا وسط MacConkey broth الذي أظهر تكون الغاز خلال (7 ساعات) وهذه نتائج تؤكد أهمية مستخلصي السمك والتمر في دعم النمو وإظهار النتيجة بهذا المستوى مقارنة بأوساط أساسية مهمة ومعتمدة على المستوى العالمي (WHO، 2004).

تعتمد الكثير من الطرق المستخدمة في التحليل البكتريولوجي للمياه على استعمال أوساط زرعية للكشف عن الملوثات ومنها مجموعة القولونيات Coliform group، بكتريا E.coli وغيرها، ومنها طريقة العدد الاكثر احتمالاً Most Probable Number (MPN)، التي تعتمد على دراسة احجام معينة من الماء المراد فحصه في انابيب حاوية على أوساط زرعية منها وسطي MacConkey broth وLauryl tryptose broth (APHA، 2005).

واستنادا إلى نتائج دراستنا الحالية بالإمكان استعمال أوساط السمك والتمر كبدائل ملائمة وكفؤة في مثل هذه الاختبارات. كما يمكن التحكم في هذه الأوساط من خلال بعض الإضافات لتخدم التحري عن أنواع محددة من البكتريا في البيئات الملوثة ومنها المياه.



A= Macconkey broth، B= Lauryl trptose broth، C= Fish & dates extract broth، D= Fish extract broth

شكل (1): مقارنة كفاءة أوساط السمك والتمر السائلة في التحري عن التلوث البكتريولوجي مقارنة بالأوساط الزرعية القياسية.

استخدام مستخلص السمك لتحضير أوساط انتخابية صلبة لبكتريا E.coli وسلالتها O157: H7.

حضر في هذه الدراسة وسط زرعي انتخابي وتفريقي لبكتريا E.coli واستبعد مستخلص التمر في هذه الحالة لإعطاء الفرصة لإضافة السكر الملائم، وتم الاستفادة من بعض إضافات وسط اجار الماكونكي وهي سكر اللاكتوز الذي يفرق بين البكتريا المعوية المخمرة ومنها بكتريا E.coli وغير المخمرة لهذا السكر، كذلك أملاح الصفراء التي تمنع نمو البكتريا الموجبة، وعند نمو هذه البكتريا تؤدي إلى تكوين مستعمرات وردية (Koneman et al, 2006). وقد لوحظ بعد زرع عزلات بكتريا E.coli على الوسط المحضر ظهور المستعمرات الوردية وتغير لون الوسط المحيط بها إلى الوردي ايضا، صورة (1) مقارنة ببكتريا Salmonella spp غير المخمرة للاكتوز التي ظهرت بلون شاحب صورة (2).

صورة (1): نمو بكتريا *E.coli* على وسط السمك التفريقي المحضر(مستعمرات وردية)

صورة (2): نمو بكتريا *Salmonella spp* على وسط السمك التفريقي المحضر(مستعمرات شاحبة)

أما فيما يتعلق بالسلالة E.coli O157: H7 فقد حضر لها في دراستنا الحالية وسط تفريقي بالاستفادة من عدم قابليتها على تخمير سكر السوربيتول وهو الأساس الذي اعتمد عليه في تحضير الوسط Sorbitol- MacConkey

(SMAC) Medium في دراسات سابقة (Church et al, 2007)، ولكن في دراستنا استخدم مستخلص السمك واضيف له سكر السوربيتول وكاشف احمر الفينول بدلا من كاشف الاحمر المتعادل المستعمل في وسط SMAC وذلك لإظهار تغير لوني اوضح في العزلات البكتيرية المخمرة للسوربيتول من خلال تغيير لون الوسط الزرعي إلى الاصفر مقارنة بغير المخمرة لهذا السكر ومنها السلالة

O157: H7 E.coli التي لا تؤثر على لون الوسط، والصورة (3) توضح هذه المقارنة في التغير اللوني للوسط الزرعي المحضر بعد نمو السلالة O157: H7 وعزلة أخرى من بكتريا E.coli.

الصورة (3): مقارنة نمو السلالة O157: H7 (اللون الاحمر في اليسار) وعزلة أخرى من بكتريا *E.coli* (اللون الاصفر في اليمين) على الوسط التفريقي المحضر لهذه السلالة.

نستنتج من نتائج هذا البحث بصورة عامة أن مستخلص السمك كبتون حيواني يمتلك الامكانيات التغذوية اللازمة لتنمية عزلات بكتريا E.coli المختلفة وأن كفاءته تزداد عندما يضاف اليه مستخلص التمر بمحتواه السكري، وأن الوسط الزرعي المعتمد على كلا المستخلصين يعد ملائما في بعض التطبيقات الخاصة بهذه البكتريا ومنها التحري عن تلوث المياه، كما أن مستخلص السمك يمكن أن يكون أساسا جيدا لتحضير أوساط زرعية انتقائية وتفريقية لبكتريا E.coli ومنها سلالتها ذات الخطورة المتزايدة O157: H7، وهذه النتائج تفتح الباب امام دراسات اضافية في تطوير استخدام هذه المستخلصات أو غيرها لدعم زراعة وعزل وتشخيص أنواع البكتريا المختلفة بإمكانيات غير مكلفة وكفؤة ومتوفرة.

قائمة المراجع:

- الخلف، وليد سعيد و خريط، روعة حسن (2014). التركيب الكيميائي للحوم والدهون المستخلصة من بعض أنواع الأسماك البحرية والنهرية السورية. المجلة الاردنية في العلوم الزراعية المجلد 10 العدد 3 الصفحات 611- 620.

- السبعاوي، بشرى دلي حمد. (2005). تقييم وتحسين التشخيص المختبري لجرثومة Salmonella typhi وحساسيتها تجاه المضادات الحيوية في محافظة نينوى. رسالة ماجستير- كلية العلوم / أحياء مجهرية- جامعة الموصل- العراق.
- العكيدي، أنغام جبار علوان سلمان. (2009). التلوث الجرثومي لمياه الشرب في محافظة نينوى والتحري عن السلالة E.coli O157: H7 وعلاقتها بحالات اسهال الأطفال دون سن الخامسة. رسالة ماجستير- كلية العلوم- جامعة الموصل- العراق.
- العكيدي، محسن ايوب.(2001). دراسات حول واقع تشخيص التدرن في العراق وامكانية تطويره. اطروحة دكتوراه- كلية العلوم- جامعة الموصل- العراق.
- الفراجي، غادة حسين علوان(2008). تعيين وتنقية مساعد الأنزيم CoQ10في عشرة أصناف من التمور العراقية بأطوار النمو الأربع الكمري، والخلال، والرطب، والتمر. أطروحة دكتوراه- كلية العلوم- جامعة بغداد- العراق.
- APHA (2005). "Standard Methods for the Examination of Water & Wast water". 21th ed. Publishers, USA.
- Baron, E. J; Peterson, L. R. and Finegold, S. M. (2007). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed., Mosby- year Book, Inc., USA.
- Bud, I., Ladosi D., Reka, St., Negrea, O. (2008). Study concerning chemical composition of fish meat depending on the considered fish species, Lucrări stiinŃifice Zootehnie si Biotehnologii, Timisoara., 2: 201- 206.
- Church, D. L; Emshey D., Semeniuk, Lloyd, H.; T. and Pitout, J. D.(2007). Evaluation of BBL CHROMagar O157 versus Sorbitol- MacConkey medium for routine detection of Escherichia coli O157 in a centralized regional clinical microbiology laboratory. J. Cli. Micro., 10. 3098–3100
- Dunn, J.R; Keen, J.E. and Thompson, R.A. (2004). Prevalence of Shiga- toxigenic Escherichia coli O157: H7 in adult dairy cattle. J.Am. Vet. Med. Assoc., 224: 1151- 1158.
- Koneman, E.W; Allen, S.P. and Janda, W.C. (2006). "Color Altlas and Text book of Diagnostic Microbiology". 6th ed. Lippincott – Willams &Wilkins Publishers, Philadelphia, USA.
- Liang, J.L; Dziuban, E.J; Craun, G.F; Hill, V; Moore, M.R; Richard, J.G; Calderon, R.L; Beach, M.J. and Roy, S.L. (2004). Surveillance for Waterborne Disease and out breaks associated with Drinking Water and Water not Intended for Drinking. Environmental Protection Agency, USA.
- Prescott, L.M; Harley, J.P. and Klein, D.A. (2008). "Microbiology". 7th ed. McGraw- Hill. Companies, Inc., USA.
- Rangel, J.M; Sparling, P.H; Crowe, C.C; Griffin, P.M. and Swerdlow, D.L. (2005). Epidemiology of Escherichia coliO157: H7 outbreaks united states 1982- 2002. Emerg. Infect., 11: 603- 609.
- Ronald M. A.(2004) Handbook of Microbiological Media.3rd ed. CRC Press LLC., New York, USA.
- WHO (2004)." Water Treatment and Pathogen Control Process Efficiency in achieving Safe Drinking water". 8th ed. Published by IWA, London, UK.

Evaluation of New prepared Culture Media for Cultivation and Identification of Escherichia coli and its Strain O157: H7.

Abstract: E.coli is the most important bacteria in health and environmental terms, which cause a wide range of diseases spread globally, especially in developing countries, which requires continuous research to improvement different diagnosis methods of these bacteria. The idea of this research was the use of fish meat and dates to prepare specialized culture media for these bacteria and their strains. Results of growth test of different isolates on prepared liquid media showed that the best growth was in medium prepared of fish and dates extracts together, it was superior to the standard medium Nutrient broth. It was superior to MacConkey broth and Lauryl tryptose broth as standard media in detection of bacteriological contamination of water after showed medium color change and gas production during (9, 6) hours only, respectively. Differential solid culture medium for E. coli also was prepared similar to MacConkey agar characteristics, the colonies of this lactose fermenting bacteria were pink compared to non- fermented Salmonella spp pale colonies. Other differential solid culture medium for E.coli O157: H7 strain was prepared according to inability of this strain to ferment sorbitol sugar and the addition of phenol red dye, the medium appeared clear differentiation between this strain and other sorbitol fermented isolates that changed the medium color to yellow.

Keywords: Cultur Media, Fish Meat, Dates, E.coli O157: H7