---- مجلة علوم الرافدين، المجلد 18، العدد 12، خاص بعلوم الحياة، ص105-118، 2007 ----

عزل وتشخيص جرثومة *Plesiomonas shigelloides* ودراسة خواصها الفسلجية وحساسيتها للمضادات الحيوية مع مخطط انسيابي للتشخيص

يسرى يحيى أغا اميرة محمود الراوي

قسم علوم الحياة

كلية العلوم

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2006/9/25 ، تاريخ القبول 2007/2/26)

الملخص

في محاولة لعزل جرثومة *Plesiomonas shigelliodes* جمعت 257 عينة توزعت كالأتي 127 عينة إسهال و50 عينة مياه مجاري و50 عينة من ماء الحنفية و30 عينة من الزائدة الدودية أمكن تشخيص 28 عزلة للجرثومة في هذه النماذج وان أعداد العزلات ونسبها المئوية 21 (16.5%) من عينات الإسهال و5 (5.1%) من مياه المجاري و 2 (6.7%) من الزائدة الدودية بينما كانت بقية النماذج سالبة لهذه الجرثومة . تم تشخيص هذه العزلات باستخدام الطرق العامة لتشخيص الجراثيم وظهر من هذه الفحوصات إن جميع العزلات منتجة لأنزيم السايتوكروم أوكسديز ومتحركة ومخمرة لسكر الاينوسيتول ومخمرة- مؤكسدة لسكر الكلوكوز وقادرة على انتزاع مجاميع الكربوكسيل من الأحماض الامينية . ومن ناحية اخرى فقد كانت العزلات غير قادرة على تحليل الاسكولين وتحلل الدم وسالبة لانتاج انزيمات الـ Gelatinase و Lipase و DNase و Urease. وقد كانت العزلات منتجة لأنزيمات البيتالاكتميز وعليه فهي مقاومة للـ Ampicllin ولكنها حساسة للـ Gentamycin و Nalidixc acid و Ciprofloxacin. ومن خلال البحث جرى اقتراح أوساط نموذجية لنقل وعزل هذه الجرثومة كما اقترح مخطط تشخيصي للجرثومة.

Isolation and Identification of *Plesiomonas Shigelloides* and Study of Its Physiological Characteristics, Sensitivity of Antibiotics and Identifying Key

Yousra Y. Agha Amera M. Al-Rawi
Biology Department
College of Sciences
Mosul University

ABSTRACT

In an attempt to isolate *Plesiomonas shigelliodes* a total of 257 various specimens were collected. These includes 127 diarrhoeal stools, 50 sewage water, 50 tap water and 30 appendices. A total of 28 isolates of this bacteria were identified. The numbers of isolates and their percentages were 21 (16.5 %) in diarrhoeal specimens, 5 (5.1 %) from sewage water and 2 (6.7 %) from appendices. Other specimens were negative for this bacteria. The isolates were characterized by using standard identification tests and were found to be all cytochrome - oxidase positive, motile, inositol fermenters and glucose oxidizing – fermenting and able of decarboxylation of amino acids. However, the isolates were negative to esculin, sheep blood haemolysis and production of Gelatinase, Lipase, DNase and Urease. They were ß- Lactamase positive. But sensitive to Gentamycin, Nalidixic acid and Ciprofloxacin. Through the project a most suitable transport and isolation media and flow sheet for the identification were suggested .

المقدمة

تعد جرثومة *Plesiomonas shigelloides* احدى مسببات الاسهال Diarrhea والتهاب المعـدة والامعاء Gastroenteritis عند الانسان، وعزيت العديد من حالات الاسهال الوبائية الى الاصـابة بهـا (يعقوب، 1998). ضمت الجرثومة الى عائلة Vibrionaceae بعد ان كانت تصنف ضمن عوائل اخرى وتعـد جرثومـة النـوع الوحيـد لجـنس Plesiomonas *Plesiomonas shigelloides* (Brien and Deborah , 2001 ; Behrman et al., 2004)، تتميز بكونها عصيات ذات نهايات مـدورة سالبة لصبغة كرام، غير مكونة للسبورات لاهوائية اختيارية كيميائية التغذية، تقـوم بعمليتـي الاكـسدة والتخمر، وتعد قدرتها لتخمر سكر الاينوسيتول صفة تشخيصية لها (Farmer et al ., 1992).

تتواجد الجرثومة في بيئات عديدة كالمياه السطحية والمالحة والتربة واوسـع انتـشار لهـا فـي المناطق المدارية وشبه المدارية ويقل في المناطق الباردة كما تقطن امعاء العديد من الحيوانـات البريـة والمنزلية وعزلت من براز مرضى يعانون من اصابات خارج معويـة كالتهـاب الـسحايا Meningites وانتان الدم Septicemia، والاصابات الجهازية بها نادرة وتزداد عند ضعيفي المناعة ، كما تسبب التهاب المرارة Cholecystitis والتهاب الزائدة الدودية الكاذب وخراجات البنكرياس والتهاب المفاصل والعظـام (Gupta , 1995).

عدت الجرثومة من ممرضات الانسان والحيوان خاصة القطط ولم تعد فلورا للانسان، ولاتـزال الية حصول الاصابة بها غير واضحة. كما وصفت الجرثومة ممرضة انتهازية خاصة لدى مرضى نقص المناعة والمصابين بالاورام الخبيثة (Jagger, 2000).

وفيما يخص حساسيتها للمضادات الحيوية، اكدت الدراسات انها تبدي مقاومة مطلقة للمـضادين Ampicillin و Penicillin G (Kain and Kelly, 1989).

ولقلة الدراسات المتعلقة بهذه الجرثومة ارتأينا عزلها وتشخيصها من مصادر مختلفة مع دراسـة خواصها الفسلجية بما فيها الفعاليات الانزيمية، وحساسيتها لعدد من المضادات الحيوية، اضافة لاقتـراح مفتاح تشخيصي لها اعتمادا على عدد من الاختبارات البايوكيميائية.

المواد وطرائق العمل

شملت الدراسة عينات من مصادر مختلفة بلغت 257 عينة توزعت بين 127 عينـة خـروج مـن حالات اسهال لاطفال تراوحت اعمارهم بين (شهر- سنتين) و 30 عينة من مرضى الزائدة الدودية و50 عينة من مياه الفضلات بالاضافة الى 50 عينة من مياه الشرب.

الاختبارات الكيمياحيوية التشخيصية :

اجريت العديد من الاختبارات الكيمياحيوية التشخيصية للجرثومة منها اختبار قدرتها علـى انتـاج انزيم سايتوكروم اوكسديز واختبرت قدرة الجرثومة على الحركة باستخدام التحضيرات الرطبة إذ فحصت مباشرة بالمجهر الضوئي وكذلك بتلقيحها على وسط فحص الحركة وتحضينها وملاحظة انتـشار النمـو (Macfaddin, 1985).

كما اجري فحص تخمر سكر الاينوسيتول الذي عد صفة تشخيصية للجرثومة باستخدام وسط تخمر السكريات (Phenole red agar) مضافا له سكر الاينوسيتول بنـسبة 1% (Prescott et al ., 1996).

كما اختبرت قدرة الجرثومة على انتاج انزيمي الجيلاتينيز واللاييز باستخدام الاوساط الخاصة لكل انزيم وحسب ماورد في (Collee et al ., 1996).

ولمعرفة قدرة الجرثومة على اكـسدة وتخمـر سـكر الكلوكـوز اسـتخدم وسـط O/F (Oxidetive Fermentation medium) وحسب ماجاء في (Baron and Fingold, 1990). فضلا عن اختبار قابليـة الجرثومة على انتزاع مجموعة الكربوكسيل من الاحماض الامينيـة الارجنـين، اللايـسين والاورنثـين باسـتخدام وسـط Moller Decarboxylase Broth Base وملاحظـة النتـائج حـسب (Koneman et al., 1997).

اختبارات التشخيص التأكيدية :

ولاختبار قدرة الجرثومة على انتاج انزيمي الـ DNase واليوريز، لقحت اطبـاق وسـط الـ DNase ووسط اكار اليوريا الاساس Urea Agar Base المضاف اليه بعد التعقيم اليوريا بنسبة 5% مـن محلول اليوريا المحضر بتركيز 40% والمعقم بالترشيح بحملة لوب من مستعمرة فتية وحضنت بدرجـة حرارة 37م مدة 24 ساعة وبعد ظهور النمو بالنسبة لاختبار الـ DNase غمرت الاطباق بحامض HCl وملاحظة تكون الهالة الشفافة حول المستعمرات من عدمها . وبالنسبة لانزيم اليوريز لوحظ تغيـر لـون الوسط الاصفر الى الوردي بعد التحضين الذي يعد نتيجة ايجابية للفحص (Macfaddin , 1985).

اختبرت ايضا قدرة الجرثومة لتحليل كل من الاسكولين والدم باستخدام وسطي الاسكولين واطبـاق اكار دم الاغنام المحضرة باضافة دم الاغنام الى وسط الاكار المغذي بنسبة 5% وتحضينها بدرجة 37°م وسجلات النتائج اعتماداً على (Koneman et al., 1997).

وتم اجراء العديد من الاختبارات الاخرى كاختبار فعالية انـزيم الكتـاليز ومجموعـة اختبـارات IMViC وانتاج H_2S في وسط ثلاثي السكريات والحديد واختزال النترات واخيـرا تخمـر الـسكريات وحسب ماورد في (Collee et al., 1996) ، كما اجري اختبار انزيم ß-Lactamase بالاعتمـاد علـى الطريقة الايودية Iodometric methode في التحري عن قدرة الجرثومـة علـى انتـاج انزيمـات ß-Lactamase وسجلت النتيجة اعتماداً على (Lennett et al ., 1991).

اختبار افضل وسط عزل:

ولانتقاء افضل وسط ناقل استخدمت عدة اوساط نقل وإغناء للجرثومة اختلفت حسب نـوع العينـة منهـا وسـط (APW) Alkaline peptone water , (TB)Tetrathionate Broth ووسـط Gram-negative broth اضافة لوسط Bile Peptone Broth (BPB) واعتمد وسط Hektone Enteric (HE) Agar الملقح بـ 0.1ml من الاوساط اعلاه لملاحظة افضل نمو للجرثومة وحسب نوع الوسـط الناقـل المأخوذ منه (Fischer et al., 1988) .

ولغرض اختبار افضل وسط لعزل جرثومة *Plesiomonas shigelloides* اختبرت عدة اوسـاط صلبة منها وسط Inositole Brillant Green Agar (IBG) و (HE) ووسط Xylose Lysin (XLD) Deoxycholate Agar. حيث لقحت بواقع 0.1 سم^3 من الوسط الناقل APW الحاوي على (1×10^5) التي تم حسابها بطريقة العد بالاطباق (Cruickshank et al., 1975) وبعد تلقيحة حضنت الاطباق بـالظروف المثالية وحسب اعداد المستعمرات.

اختبارات الحساسية :

ولاختبار حساسية عزلات الجرثومة للمضادات الحيوية استخدمت أنواع من المضادات الحيوية قسم منها جاهز والأخر حضر في المختبر حسب توصيات منظمة الصحة العالمية ولغرض اجـراء اختبـار الحساسية اعتمد على طريقة Bauer-Kirby (Bauer et al., 1966) والمحورة المعتمدة من قبل منظمـة الصحة العالمية (Vandepitte et al ., 1991). والجدول التالي يوضح المضادات الحيوية المستخدمة.

المضاد الحيوي	الرمز	التركيز
Amikacin	AM	30
Ampicilline	AMP	10
Carbenicillin	CAR	100
Cephalothin	CF	30
Chloromphenicol	CP	30
Ciprofloxiacin	CIP	5
Gentamycin	GM	10
Kanamycin	K	30
Lincomycin	L	30
Nalidixic acid	NA	30
Streptomycin	S	10
Tetracyclin	TE	30
Trimethoprim sulfamethoxazole	TSX	25

المفتاح التشخيصي :

واعتمادا على عدة اختبارات كيمياحيوية لغرض تشخيص الجرثومة تم تصميم مفتاح تشخيـصي لها، شملت الاختبارات، التفاعل مع صبغة كرام وشـكل الخلايـا ونموهـا فـي الظـروف اللاهوائيـة الاختيارية، إنتاج أنزيم السايتوكروم اوكسديز، القدرة على الحركة، انتاج انزيمي اللايبيـز والجيلاتينيـز، القدرة على تخمير سكر الاينوسيتول، وأخيرا انتزاع مجموعة الكربوكـسيل مـن الأحمـاض الامينيـة الارجنين واللايسين.

النتائج والمناقشة

تم الحصول على 219 عزلة جرثومية مختلفة من 127 عينة خروج لاطفال مـصابين بالاسـهال شخصت منها 21 عزلة لجرثومة *Plesiomonas shigelloides* أي بنسبة بلغت 16.5% من المجمـوع الكلي للمصابين بالاسهال اما الجراثيم الاخرى فقد عزلت بنسبة 83.5%، وكانت نسبة عزل الجرثومة في دراستنا اعلى من نسبة العزل التي حصل عليها الباحث يعقوب (1998) التي بلغت 3.2% من مجموع 247 عينة خروج لاطفال مصابين بالاسهال في محافظة البصرة، اما في الموصل فقد بلغت نسبة عزلهـا

7.5% في دراسة الباحثة علي (2003) من مجموع 80 عينة خروج وبواقـع 6 عـزلات للجرثومـة. وسجلت دراسة في اليابان للباحث Arai واخرون في عـام (1980) نـسبة اصـابة للجرثومـة مـابين 0.01 - 5.5% بينما عزلت بنسبة 5.6% من قبل الباحث Schubert فـي عـام (1984) امـا الباحثـان Holmberg وFarmer في عام 1984 فقد عزلا الجرثومة بنسبة 18%. ان الاختلاف في نسب العزل قد يعود لاسباب عديدة منها اختلاف الموقع الجغرافي والعوامل البيئية فضلا عن التفاوت في الوعي الصحي وعدد العينات المأخوذة وهذا مطابق لما ذكره الباحثان Alabi و Ododugbemi (1990).

كما اوضحت نتائج اختبار عينات الزائدة الدودية من مرضى خاضعين لعمليات استئصال الزائدة الدودية عزل الجرثومة بنسبة 6.7% من مجموع 30 عينة، بينما شكلت الجراثيم الاخرى نسبة 93% وقد اشار الباحث Brenden واخرون في عام (1988) الى حدوث حالات التهاب الزائدة الدودية الكاذب نتيجة الاصابة بالجرثومة.

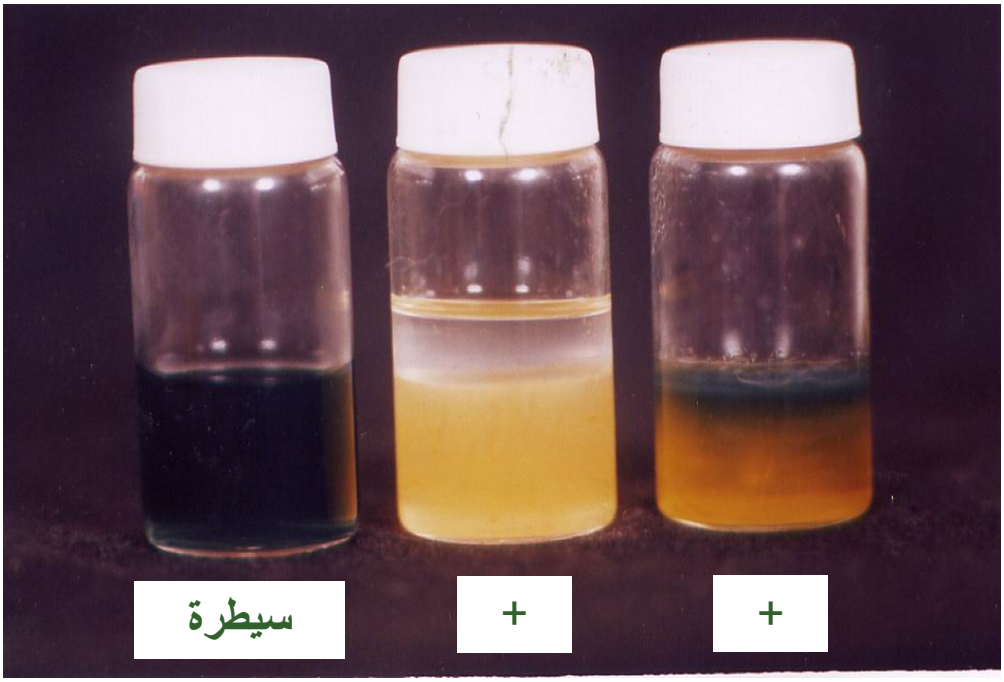
وبالنسبة لعينات مياه الفضلات فقد عزلت الجرثومة بنسبة 10% من 98 عزلة جرثومية مختلفـة شخصت من تحليل 50 عينة مياه فضلات بكتريولوجيا وقد اشار الباحثان Medema و Schets في عـام (1993) الى ان نسبة ظهور الجرثومة وكثافة نموها يعتمد على عوامل عديدة منها نسبة المغـذيات فـي المياه ومستوى تلوث مياه الفضلات وان احتواء مياه الفضلات على المواد العضوية واللاعضوية يـؤدي الى توفير ظروف ملائمة لإغناء الجراثيم فضلا عن ملائمة درجة حرارتها.

وعند اجراء الاختبارات الكيمياحيوية للجرثومة اوضحت النتـائج قـدرتها علـى انتـاج انـزيم السايتوكروم أوكسديز وقدرتها على الحركة، وقد اشار الباحث Schubert في عام 1981 انهـا تمتلـك خصلة من الاسواط تنتظم في احدى نهايتي الخلية وهذا ماكدته دراسة الباحثان Janda و Abbott في عام (1999). وابدت الجرثومة قدرة على تخمير سكر الاينوسيتول الذي عُد صفة تشخيصية لها بتغير لـون الوسط الاحمر الى الاصفر نتيجة تخمر سكر الاينوسيتول وتغير لون الدليل.

فيما اظهرت النتائج عدم قدرة الجرثومة على انتاج انزيمي الجيلاتينيز واللايبيز وهذا مطـابق لما جاء في (Koneman et al ., 1997) بينما اشار الباحث يعقوب في عام 1998 الى قـدرة بعـض عزلات الجرثومة على انتاج انزيم اللايبيز.

وتوضح الصورة (1) قدرة الجرثومة على اكسدة وتخمر سكر الكلوكوز باستخدام فحـص O/F وهذا مطابق لدراسات (Popoff, 1984 ; Collee et al., 1996). وابدت الجرثومة نتائج ايجابية لاختبار القدرة على انتزاع مجموعة الكربوكسيل من الاحماض الامينية الارجنين واللايسين والاورنثين، فيما لـم تـتمكن مـن انتـاج انزيمـي الـ ـ DNase واليـوريز وهـذا مطـابق لمـا جـاء فـي دراسـات (Holt et al., 1994 ; Koneman et al., 1997) بينما اشار الباحث Brooks وآخرون في عام (2001) الى ان الجرثومة تمتلك القابلية على انتاج الـ DNase. كما لم تتمكن الجرثومة مـن تحليـل كـل مـن الاسكولين والدم، تتفق هذه النتائج السالبة مع ماورد في (Collee et al., 1996). وعند اجراء اختبارات

IMViC اوضحت نتائج الاختبارات قدرة الجرثومة على انتاج الاندول نظرا لامتلاكها انزيم التربتوفانيز وقدرتها على تأييض الحامض الاميني التربتوفان وانتاج الاندول وحامض البيروفيك والامونيـا واسـتدل عليها بتكوين حلقة حمراء على سطح الوسط، كما تمكنت من تأييض سـكر الكلوكـوز والكـشف عنـه باستخدام كاشف المثيل الاحمر، فيما لم تتمكن من انتاج الـ Butandiol من تخميـر سـكر الكلوكـوز باستخدام كاشف كوبلنتز Coblent'z Reagent، ولم تبدي الجرثومة قدرة على استخدام السترات كمصدر كربوني لانتاج الطاقة، كما لم تتمكن من انتاج غاز H_2S. كما تمكنت الجرثومة من تخمير عـدد مـن السكريات وانتاج حامض دون غاز بدلالة تغير لون الوسط. ويوضح الجـدول (1) نتـائج الاختبـارات الكيمياحيوية.



الصورة 1 : قدرة جرثومة *P. shigelloides* على القيام بفعاليتي الاكسدة والتخمر O/F

وقد ابدت جميع عزلات الجرثومة قدرة على انتاج انزيمات البيتالاكتميز حيث استدل على النتيجة الموجبة بظهور اللون الابيض بعد اضافة الايودين وحسب الطريقة الايودية وهذا ناتج عن تحطيم الانزيم لحلقـة البيتالاكتام الموجودة في تركيب البنسلين فيفقد المضاد قدرتـه على تحطـيم جـدار الخليـة، اذ تعمـل الانزيمات على فتح احصرة البيتالاكتام الموجودة في تركيـب البنـسلين لتعطـي حـامض البنـسليونيك Penicillionic acid غير الفعال (Franklin and Snow., 1975) وهـذا مطـابق لدراسـة الباحـث Fischer وآخرون في عام (1988) من امتلاك جميع عزلات الجرثومة المختبرة لانزيمات البيتالاكتميز.

الجدول 1 : يوضح الاختبارات الكيمياحيوية لجرثومة *P. shigelloides*

الاختبارات		النتيجة
اختبار الاوكسديز	Oxidase test	+
اختبار الكتاليز	Catalase test	+
اختبار الحركة	Motility test	+
تحلل الاسكولين	Esculin hydrolysis	-
القدرة على الاكسدة والتخمر	Oxidative- Fermentation	O/F
اختزال النترات	Nitrate Reduction	+
انتاج اللايبيز	Lipase Production	-
تحلل الجلاتين	Gelatin hydrolysis	-
انتزاع مجموعة الكاربوكسيل من		
الليسين	Lysin decarboxylase test	+
الارجنين	Arginin decarboxylase test	+
الاورنثين	Ornithine decarboxylase test	+
انتاج DNase	DNase production	-
انتاج اليوريز	Urease production	-
اختبارات IMViC		
انتاج الاندول	Indol production	+
اختبار المثيل الاحمر	Methyl Red test	+
اختبار فوكس بروسكاور	Voges-proskauer test	-
اختبار استهلاك السترات	Citrate utilization	-
انتاج H_2S	H_2S production	-
تخمر الكاربوهيدرات Carbohydrate Fermentation test		
الاينوسيتول	Inositol	+
الكلوكوز	Glucose	+
التريهالوز	Trehalose	+
المالتوز	Maltose	+
اللاكتوز	Lactose	-
السكروز	Sucrose	-
المانيتول	Manitol	-
السالسين	Salicin	-
الارابينوز	L-arabinose	-
الزايلوز	Xylose	-
السليوبايوز	Cellobiose	-

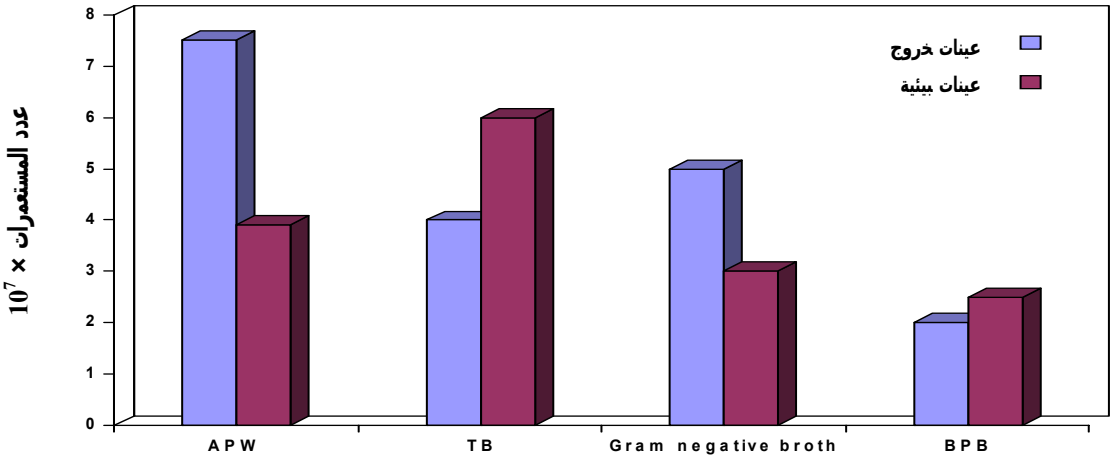
كما توضح الدراسة حساسية جرثومة *Plesiomonas shigelloides* للمضادات الحيوية إذ أظهرت حساسية مطلقة للمضادات Gentamicin و Nalidixc acid و Ciprofloxacin تلتها المضادات Chloramphenicol و Trimethoprim إذ بلغت نسبة الحساسية لكليهما 44.7% و 84.2% على التوالي وتفاوتت نسب الحساسية للمضادات الاخرى فبلغت لل Cephalothine 78,9% و57,8 للمضاد Tetracycline، جاءت هذه النتائج متماشية مع نتائج الباحث يعقوب في عام (1998) والباحثة سليم في عام (2003) ، كما بينت النتائج ان الجرثومة أظهرت مقاومة بشكل مطلق للمضاد الحيوي Ampicillin لامتلاكها لانزيمات البيتالاكتميز المثبطة للبنسلينات اما بالنسبة للمضادات Amikacin, Kanamycin Streptomycin , Carbencillin , Lincomycin، فقد بلغت مقاومة عزلات الجرثومة لها 89.5% 89.5, %94.7 , %94.7, %94.7 على التوالي. جاء هذا مطابقا لما حصل عليه الباحثان Hostacka و Ciznar في عام (2003) حيث اشارو الى دور مركبات الـQuinolones في التاثير على جرثومة *P. shigelloides* باستخدام المضادات الحيوية التابعة لها وان الجرثومة لم يؤثر عليها المضادات التي تمتلك انزيمات البيتالاكتميز والجدول (2) يوضح حساسية ومقاومة جرثومة *P. shigelloides* للمضادات الحيوية.

وقد اعتمد على عدد مستعمرات الجرثومة النامية على الوسط الانتخابي (HE) الملقح بـ (0.1ml) من كل من اوساط النقل المذكورة في المواد وطرائق العمل وبعد التحضين اظهرت النتائج ان وسط APW اعطى نتائج افضل للنمو مقارنة مع الاوساط الاخرى بدلالة عدد المستعمرات البالغة (7.5×10^7) بينما اعطى الوسط BPB اقل عدد مستعمرات على الوسط الانتخابي. جاء هذا مطابقا لما ذكره الباحث Frennd واخرون في عام (1988) عند استخدام وسط APW باس هيدروجيني 8.6 وتحضين العينات بدرجة 40°م بانه يعد افضل وسط ناقل لجرثومة *Plesiomonas shigelloides*.

اما بالنسبة لعينات المياه فاظهرت النتائج ان وسط TB عُد الافضل من بين الاوساط الناقلة المستخدمة وهذا مطابق لما ذكره الباحث Frennd واخرون في عام (1988) في كونه افضل وسط نقل لعينات المياه والشكل (1) يوضح عدد مستعمرات الجرثومة باستخدام الاوساط الناقلة من العينات المرضية والبيئية. وعند اختبار افضل وسط صاب لعزل الجرثومة تبين ان وسط HE كان افضلها بدلالة النمو الكثيف وكما واضح في الصورة (2).

الجدول 2 : حساسية جرثومة *P. shigelloides* للمضادات الحيوية

المقاومة		الحساسية		الرمز	المضادات الحيوية
النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد		
89.5	17	10.5	2	AM	Amikacin
100	19	0	0	AMP	Ampicillin
94.7	18	5.3	1	CAR	Carbenicillin
21.1	4	78.9	15	CF	Cephalothin
0.3	1	94.7	18	CP	Chloromphenicol
0	0	100	19	CIP	Ciprofloxacin
0	0	100	19	GM	Gentamycin
89.5	17	10.5	2	K	Kanamycin
94.7	18	5.3	1	L	Lincomycin
0	0	100	19	NA	Nalidixic acid
94.7	18	0.3	1	S	Streptomycin
42.2	8	57.8	11	TE	Tetracyclin
13.8	3	84.2	16	TSX	Trimethoprim-sulfamethoxazol

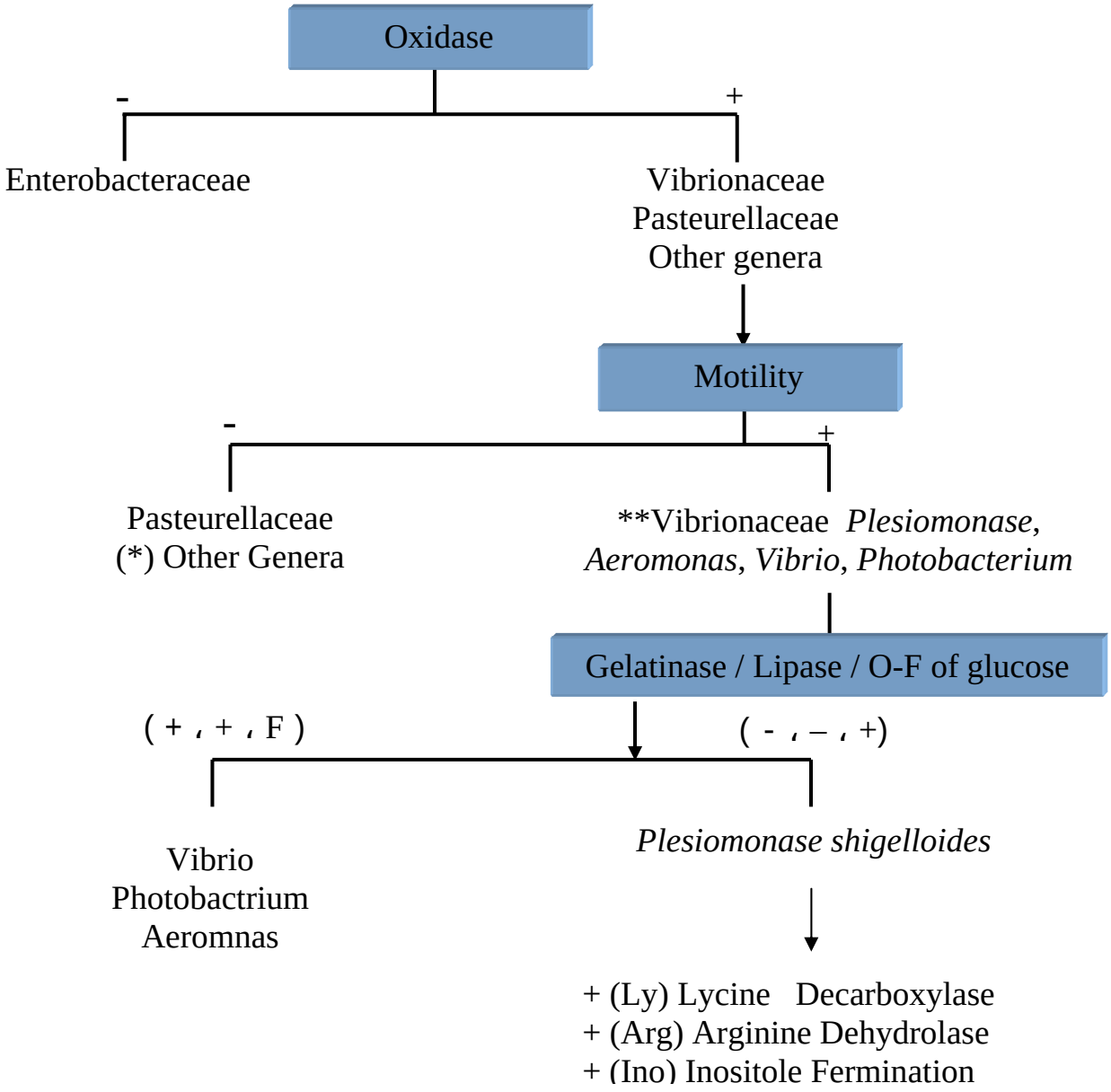


الشكل 1 : العلاقة بين عدد المستعمرات وبعض الاوساط النافلة لجرثومـة *P. shigelloides* (APW) Alkaline Pepton Water، Tetrathionet Broth (TB) ، Bile Pepton Broth (BPB)

الصورة 2 : مستعمرات جرثومة *P. shigelloides* على وسط Hekton Agar (HE).

ولغرض التحري عن جرثومة *P. shigelloides* وتشخيصها تم وضع مفتاح تشخيصي لها اعتمد على عدد من الاختبارات الكيمياحيوية منها انتاج انزيم السايتوكروم اوكسديز لتميزها عن العائلة المعوية ثم اجري فحص الحركة لتميز عائلة Vibrionaciae عن بقية العوائل الواقعة ضمن نفس المجموعة ولتميز جنس *Plesiomonas* عن بقية الاجناس ضمن العائلة اجريت اختبارات القدرة على انتاج انزيمي الجيلاتينيز واللايبيز واكسدة وتخمر السكريات، وللتأكيد على كون الجرثومة *P. shigelloides* اجريت اختبارات نزع مجموعة الكاربوكسيل من الاحماض الامينية اللايسين والارجنين، واهم اختبار معتمد لتشخيص الجرثومة قدرتها على تخمر سكر الاينوسيتول ويوضح الشكل (2) مخطط المفتاح التشخيصي للجرثومة قيد الدراسة.

عصيات مستقيمة سالبة لصبغة كرام لاهوائية اختيارية



الشكل 2 : المفتاح التشخيصي المقترح لجرثومة *Plesiomonase shigelloides*

* ما عدا الجنس *Choromobactirium* يكون متحرك لكنه ينتج انزيم الجيلاتنيز وينتج صبغة بنفسجية في الاوساط السائلة ومستعمراته بنفسجية على الاوساط الصلبة.

** ما عدا الجنس *Enhydrobacter* يكون غير متحرك.

المصادر العربية

علي، ذكرى سليم، 2001. دراسة تشخيصية ومرضية ووراثية في جرثومة *Aeromonas* المعزولة من حالات الاسهال في مدينة الموصل . اطروحة دكتوراه، جامعة الموصل.

علي، ذكرى سليم، 2003. دراسة شكلية وكيمياحياتية لـست عـزلات مـن جرثومـة *Plesiomonas shigelloides* المعزولة من حالات اسهال الاطفال، مجلة علوم الرافدين ، المجلد 14 ، ص 196-207.

يعقوب، ياسين يوسف، 1998. التغيرات النسيجية المرضية في اكباد فئران Balble المخمجة لجرثومـة *Plesiomonas shigelloides*. مجلة علوم البصرة، المجلد 1، ص 1-8.

يعقوب، ياسين يوسف، 1998. دراسة عن جرثومة *Plesiomonas shigelloides* المعزولة من حـالات الاسهال وامراضيتها خارج وداخل الجسم الحي. رسالة ماجستير، جامعة البصرة.

REFERENCES

Alabi, S.A. and Odugbemi, T. 1990. Occurrence of *Aeromonas* species and *Plesiomonas shigelloides* in patients with and without diarrhoea in logos, Nigeria. J. Med. Microbiol. 32 : pp. 45-48.

Aria, T. Ikejima, N. Itoh, T. ; Sakai, S.; Shimada, T. and Sakazaki, R. 1980. A survey of *Plesiomonas shigelloides* from aquatic environments, domestic animals , Pests and Humans. J. Hyg (Lond). 84 : pp. 203-211.

Baron, E.J. and Finegold S.M. 1990. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 8th ed. C.V. Mosby Company , USA.

Bauer, A.W.; Kirby, W.A.M.; Sherris, J.S. and Tark, M. 1966. Antibiotic susptibility testing by a standarized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45 : pp. 493-496

Behrman, R.E.; Kliegman, R.M. and Jenson, H.B. 2004. Text book of Pediatrics. 17th ed. Sounders company . USA.

Brenden, R.A.; Miller, M.A. and Janda, J.M. 1988. Clinical disease spectrum and pathogenic factors associated with *Plesiomonas shigelloides* infection in humans. Rev. Infect. Dis. 10 : pp. 303-316.

Brien, M.O. and Deborah. S. 2001. *Plesiomonas shigellosdes* enters polarized Human Intestinal Caco-2 cells in an *In Vitro* Model system. Infec. and Immun. 69 : pp. 2260-2269.

Brooks, G.F.; Butel, J.S. and Morse, S.A. 2001. Jawetz, Melnick and Adelberg . Microbial Microbiology . 22nd ed., Appelton and Lange, USA.

Collee, J.G. and Franser, A.G. ; Marmion, B. P. and Simmons, A. 1996. Mackie and McCarteny Practical Medical Microbiology. 14th ed. , Churchill Livingston Inc., New York.

Cruickshank, R.; Dnguid, T.P.; Marmion, B.P. and Swain, R.H.A. 1975. Medical Microbiology. 12th.ed. Churchill , Livingstone England

Farmer , J.J. ; Arduino , M.J. and Hickman Brenner , F.W. 1992. The genera *Aeromonas* and *Plesiomonas*. P. 3012-3028PP. In Balows , A. ; Truper , H.G. ; Dworkin , M. ; W. Harder and Schleifer , K.H. (ed.) , The Prokaryotes. 2nd ed. Springer-Veriag , New York, N.Y.

Fischer, K. ; Chakraborty, T. ; Hof, H. Kirchner, T. and Wamsler , O. 1988. Pseudoappendicitis Caused by *Plesiomonas shigelloides* . J. Clin. Microbiol. 26 : pp. 2674-2677. Cited in Clark RB. and Janda , J.M. 1991. *Plesiomonas* and Human disease. Clin. Microbiol. News letter. 13 : pp. 49-52.

Franklin, T.J. and Snow , G.A. 1975. Biochemistry of Antimicrobial Action, 2nd ed. , John Wiley and Sons , Inc New York , pp. 43-47 , pp. 88-90 , pp. 180-193.

Freund, S.M. ; Koburger , J.A. and Wei, C.I. 1988. Enhanced recovery of *Plesiomonas shigelloide* following an enrichment technique. J. Food Protect. 51 : pp. 100-112.

Gupta , S. 1995. Migratory polyarthritis associated with *Plesiomonas shigelloides* infection , Scand J. Rheumatol , 24 : pp. 323-325.

Holmberg , S.D. and Farmer , J.J. 1984. *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides* as causes of intestinal Infections. Rev. of Infect. Dis. 6 : pp. 633-639.

Holt , J.G. ; Krieg , N.R. ; Sneath , P.H.A. ; Staley , J.T. and williams , S.T. 1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. The Williams and Wilkins comp. USA. Baltimore.

Hostacka , A. and Ciznar , I. 2003. Some properties of *Plesiomonas shigelloides* treated with aminoglycosides. Folia Microbiol. (praha) 48 : pp. 659-663.

Jagger, T.D. 2000. *Plesiomonas shigelloides* - a veterinary perspective. Infect Dis Rev. 2 : pp.199-210.

Janda , J.M. and Abbott , S.L. 1999. Unusuol Food-bornee pathogens : *Lesteria monocytogenes* , *Aeromonas plesiomonas* and Edwardsilla speaes. Food Borne Dis , 19 : pp. 553-582.

Kain, K.C. and Kelly, M.T. 1989. Clinical features , epidemiology and treatment of *Plesiomonas shigelloides* diarrhoea. J. Clin. Microbiol. 27 : pp. 998-100.

Koneman, E.W. ; Allen, S.D. ; Janda, W.M. ; Schreck enberger , P.C. and Winn , W.C. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott-Raven Puhtishers, Philadelphia , USA.

Lennett , E.H. ; Balows, A.A. ; Hausler, W.J. ; J.R. ; Herrmann. K. and Shadomy, H.J. eds. 1991. Manual of Clinical Microbiology , 5th ed., C. American Society for Microbiology Washington , D.C., U.S.A.

Macfaddin, J.F. 1985. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 2nd ed. Waverly Com. Inc. Baltimore. USA.

Medema , G. and Schets , C. 1993. Occurrnce of *Plesiomonas shigelloides* in surface water ; relationship with faecal pollution and trophic state. Zbl Hyg. 194 : pp. 398-404.

Popoff , M. 1984. Genus III. *Aeromonas* klugver and van Niel 1936, 398 , 545-548PP. In N.R. Krieg and J.G. Holt (ed). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1. The Williams and Wilkins Co., Baltimore , Md.

Prescott , L.M. ; Harley , J.P. and Klein , D.A. 1996. Microbiology. 3rd ed. , W.M.C. Brown Communication , Inc. Lowa , USA.

Rahim, Z. ; Ali, A. and Kay, B.A. 1992. Prevalence of *Plesiomonas shigelloides* among diarrheal patients in Bangladesh. Eur. J. Epidemol. 8 : PP. 753-756.

Schubert, R.H.W. 1981. Zur Ökologie von *Plesiomonas shigelloides* Zentralbl. Bakteriol Microbiol. Abt. 1 orig. Reihe A. 172: pp. 528-533.

Schubert, R.H.W. 1984. Genus *IV*. *Plesiomonas* Habs and schubert 1962, 548-550PP. In N.R. Kreig and J.G. Holt (ed.), Bergey's Manual of Systemic Bacteriology. Williams and Wilkins , Baltimore, Md .

Vandepitte, J. ; Engbaed, K. ; Piot, P. and Heuck, C.C. 1991. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization , Geneva.