شیگلا (Shigella)

طبقه بندی شیگلا

جنس شیگلا متعلق به خانواده اشریشیه (Tribe Escherichieae) می باشد.در این خانواده دو جنس اشریشیا و شیگلا قرار دارند.در ابتدا به نظر نمی رسید که این دو گروه به هم وابسته باشند ، زیرا از نظر خصوصیات ظاهری و رشد روی محیطهای مختلف و خصوصیات بیوشیمیایی با یکدیگر متفاوت اند.مثلاً ایکلای لاکتوز را تخمیر می کند ، اما شیگلاها لاکتوز را تخمیر نمی نمایند و معمولاً ایکلای از نظر واکنشهای بیوشیمیایی در مقایسه با شیگلاها فعال تر می باشند ، یعنی شیگلاها فعالیت کمتری دارند.اما این دو جنس از نظر ژنتیکی کاملاً به یکدیگر وابسته بوده و بر اساس مطالعات هیبریدیزاسیون DNA ، ۴ گونه شیگلا وایکلای در حقیقت یک گونه واحدی را تشکیل می دهند.از آنجاییکه گونه های شیگلا قادر به ایجاد بیماری خاص بنام دیسانتری باسیلی می باشند و همچنین برای جداسازی ایکلای از شیگلا آنتی سرمهای اختصاصی وجود دارد ، گونه های شیگلا را در جنس جداگانه ای طبقه بندی می کنند.البته باید توجه داشت که تشخیص بعضی از سویه های E.coli از گونه های شیگلا مشکل است.زیرا بعضی از E.coli ها لاکتوز را دیر تخمیر می کنند ، بی حرکتند و از نظر واکنشهای بیوشیمیایی غیر فعال می باشند ، همچنین بعضی از شیگلاها مانند شیگلا فلکسنری می تواند از تخمیر گلوکز ، گاز تولید کنند.

طیف بیماریزایی E.coli خیلی وسیعتر از شیگلا می باشد و سویه های توکسیک ایکلای می تواند بیماری اسهالی شبیه دیسانتری باسیلی ایجاد کنند که افتراق آنها از یکدیگر مشکل است و در بعضی موارد برای تشخیص قطعی به آزمایش های سرولوژیکی نیاز می باشد.

جنس شیگلا (Genus Shigella)

نام شیگلا برگرفته از نام میکروب شناس ژاپنی Kiyoshi shiga می باشد ، که اولین بار این ارگانیسم را در سال ۱۸۹۶ جدا نمود.گونه های شیگلا برعکس ایکلدی فلور طبیعی مجاری معدی روده ای نبوده و همه آنها عامل بیماری دیسانتری باسیلی می باشند.برعکس دیسانتری ایکلای با خون ، موکوس و چرک در مدفوع مشخص می شود.عفونتهای ناشی از شیگلاها از طریق کریرها (حاملین بیماری) گسترش می یابند و هیچ منبع حیوانی برای آنها وجود ندارد.عفونت شیگلا دیسانتری معمولاً نشانگر شرایط بهداشت محیطی نامناسب و همچنین بهداشت فردی ضعیف می باشد.

اپیدمیولوژی

اگرچه همه شیگلاها باعث ایجاد دیسانتری می شوند، اما گونه های مختلف در میزان مرگ و میر ، شدت بیماری و اپیدمیولوژی متفاوت اند.بیماری شیگلوز از عفونتهای شایع در سراسر دنیا است.در ایالات متحده ، شیگلا سونئی رایج ترین عامل بیماری دیسانتری است ، اما علائم بیماری ناشی از آن خفیف بوده و معمولاً بیماری خود محدود می باشد.در این کشور ، شیگلا دیسانتری کمترین عامل عفونت است.در کشورهای گرمسیری شیگلا فلکسنری ، بوئیدی و دیسانتری (غیر از تیپ ۱).بصورت اندمیک (بومی)

باقی مانده است و گهگاهی بصورت تک گیر اتفاق می افتد.شیگلا دیسانتری تیپ ۱ (باسیل شیگا) می تواند اپیدمی های گسترده ای با میزان مرگ ومیر بالا ایجاد نماید.

بیماری شیگلوز از مسری ترین بیماریهای اسهال باکتریایی است.زیرا میزان کمی ارگانیسم برای ایجاد بیماری نیاز است و حدود ۲۰۰ ارگانیسم زنده برای شروع بیماری در افراد سالم ، کافیست.سالانه بین ۲۵۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ مورد از این بیماری در ایالت متحده گزارش می شود.

میزبان طبیعی این ارگانیسم انسان است.راه انتقال بیماری ، مدفوعی- دهانی (Oral-Fecal) می باشد.انتقال غیر مستقیم از راه آب و غذا نیز امکان پذیر است.

رعایت بهداشت فردی ، نقش مهمی در جلوگیری از انتقال بیماری دارد.استفاده از آب و غذای بهداشتی موثرترین راههای پیشگیری مخصوصاً در مدارس و پرورشگاهها و محیط های عمومی می باشد.به نظر می رسد که بچه های کمتر از ده سال ، مخصوصاً بچه های یک ساله و زیر یک سال بیشتر در معرض بیماری هستند.

عفونتهای کلنیکی

طیف بیماری شیگلوز از موارد بدون علائم و ضعیف تا موارد شدید متفاوت است.تب ، اسهال آبکی ، همراه با دردهای شکمی و دردهای عضلانی عمومی ، رایج ترین علائم اولیه بیماری شیگلوز است ، که ۴۸-۲۴ ساعت بعد از خوردن غذای آلوده ظاهر می شود.اثر انتروتوکسین روی سلولهای اپی تلیال روده ، باعث از دست رفتن آب و الکترولیت در بیماری می شود.بعد از ۳-۲ روز حرکات روده ای کم شده و مقدار مدفوع کاهش می یابد ، اما وجود خون قرمز روشن و موکوس و لکوسیت زیاد در مدفوع وشروع دردهای شکمی نشانه مرحله دیسانتریک بیماریست.زخم ناشی از این ارگانیسم به رکتوم و روده بزرگ محدود می شود ، اما در موارد شدید، قسمت انتهایی ایلئوم نیز ممکن است درگیر شود.در موارد بسیار نادری ، ممکن است عفونتهای خارج روده ای بصورت باکتریمی یا عفونت های مجاری ادراری و حتی تناسلی ایجاد شود.

خصوصیات بیوشیمیایی

باکتری های روده ای بی هوازی اختیاری ، اکسیداز منفی ، لاکتوز منفی و غیر متحرک اند ، قادر به تخمیر گلوکز بوده و از تخمیر گلوکز گاز تولید نمی کنند ، اوره آزمون منفی و سیترات منفی هستند.در محیط TSI ، هیدروژن سولفوره (H_2S) تولید نکرده و لیزین منفی می باشند.(جدول ۱).

- خصوصیات مورفولوژیک

باسیلهای گرم منفی غیر متحرک بدون اسپور و بدون کپسول می باشند.فیمبریه (تیپ ۱) فقط در شیگلا فلکسنری وجود دارد و در سروتایپهای دیگر شیگلا دیده نمی شوند.

خصوصیات کشت

هـــــوازی و بـــــی هـــــوازی اختیـــــاری مـــــی باشـــــند حـــــرارت مناســـــب بـــــرای رشـــــد آنهـــــا $37^{\circ}c$ می باشد.شیگلا سونئی حتی به خوبی در $10^{\circ}c$ و $45^{\circ}c$ هم رشد می کند.

محیط نوترینت آگار و بلاد آگار : بر روی این محیطها کلنی های صاف ، براق یـا بـی رنـگ و مـات بـه قطـر mm ۳-۲ شـبه سالمونلا ایجاد می نماید.کلنی های شیگلا سونئی کمی بزرگتر و تیره تر از سایر شیگلاهاست.

شیگلا سونئی دو فاز آنتی ژنی دارد.کلنی های فاز I ، مشابه کلنی سایر شیگلاها است.کلنی هـای فـاز II کـه بـا تغییـرات غیـر قابـل برگشتی از فاز I ایجاد می شوند ، بزرگتر و کمی شفاف تر بوده و دارای حاشیه نامنظم و سطح ناصاف می باشـد.ایـن تغییـرات احتمـالاً شبیه تغییرات $S \rightarrow R$ در سالمونلاهاست.

(ارگانیسم های فاز II ممکن است از بیماران در طی دوره نقاهت یا در انتهای دوره بیماری جدا شود).

محیط آب پپتونه و نوترینت براث : شیگلاها در این محیطهای کشت رشد مناسب با کدورت یکنواخت دارند.

- ساختمان آنتی ژنیک و طبقه بندی شیگلاها

جنس شیگلا شامل ۴ گونه می باشد : شیگلا دیسانتری ، شیگلا فلکسنری ، شیگلا بوئیدی ، و شیگلا سونئی.این گونـه هـا اغلـب بـه عنوان زیر گروههای A ، B ، C و D مشخص می شوند.فرمول آنتی ژنی شیگلاها در جدول ۱-۲ آمده است.این گونه هـا بـر اسـاس ساختار آنتی ژن سوماتیک O طبقه بندی شده اند.

شیگلا دیسانتری یا زیر گروه A شامل ۱۰ سرووار است ، هر سرووار یک آنتی ژن اختـصاص دارد کـه بوسـیله آن متمـایز مـی شود.

شیگلا فلکسنری یا زیر گروه B شامل ۸ سرووار و ۹ ساب سرووار می باشد.سروارها از نظر آنتی ژنیکی به هم وابسته انـد ، امـا هرکدام یک آنتی ژن بزرگ متمایز دارند.

شیگلا بوئیدی یا زیر گروه C شامل ۱۵ سرووار است و هر سروار یک آنتی ژن اختصاص دارد.آنها ممکن است با آنتـی سـرمهای سایر گونه های شیگلا واکنش متقاطع ایجاد کنند ، اما در تشخیص آنها تداخلی پیش نمی آید.

شیگلا سونئی یا زیر گروه D تنها دارای یـک سـرووار مـی باشـد کـه در دو فـاز I و II وجـود دارد ، و هـر فـاز یـک آنتـی ژن اختصاصی دارد.فاز II ممکن است در طی دوره نقاهت یا در اواخر دوره بیماری از بیماران مبـتلا جـدا شـود.آنتـی سـرمهای اختـصاصی برای تشخیص هر دو فاز مورد نیاز است.

انتخاب محیطهای کشت جهت جداسازی اولیه

- محیطهای کشت جامد

۱- Mac Conkey agar – کلنی های شیگلا بر روی این محیط کمرنگ مایل به زرد (لاکتوز منفی) مشابه کلنی سالمونلاهاست.کلنی های شیگلا سونئی لاکتوز را دیر تخمیر می کنند و وقتی بیشتر از ۲۴ ساعت اتوگذاری شوند ، صورتی رنگ می شوند.

۲- DCA-Desoxycholate-Citrate agar یک محیط انتخابی بسیار خوب برای جداسازی شیگلاها از مدفوع است.کلنی ها بی رنگ و شبه کلنی سالمونلاهاست ، معمولاً کوچکتر به قطر ۱/۵-۱ mm و براقتر از کلنی سالمونلاها می باشد.مرکز کلنی ها سیاه نمی شود.با اتو گذاری طولانی تر ، کلنی شیگلا سونئی صورتی پر رنگ می شود.

۳- XLD-Xylose lysine deoxycholate agar احتمالاً بهترین محیط انتخابی برای شیگلاهاست و رشد شیگلا دیسانتری و شیگلا فلکسنری را کنتر از DCA مهار می کند.کلنی ها قرمز رنگ هستند و بر خلاف سالمونلاها در مرکز کلنی ، نقطه سیاه تشکیل نمی شود.

۴- Salmonella-Shigella agar (SS)- (رجوع شود به بخش سالمونلا)

۵- Hektonen enteric agar (HE)- (رجوع شود به بخش سالمونلا) کلنی شیگلا بر روی این محیط سبزتر از کلنی سالمونلاها است.البته اطراف کلنی کمرنگ تر می باشد.

* شیگلاها بر روی محیط Bismuth sulphite agar رشد نمی کنند.

- محیطهای مغذی

۱- Selenite broth– شیگلا سونئی و بعضی سروتایپهای شیگلا فلکسنری در این محیط به خوبی رشد می کنند اما در سایر موارد مانع رشد سایر شیگلاها می شود.

۲- Gram-negative broth (GN) – دزوکسی کولات و سیترات موجود در این محیط مانع رشد باکتریهای گرم مثبت می شود و افزایش غلظت مانیتول نسبت به گلوکز ، رشد پروتئوس ها را محدود می نماید.سالمونلاها و شیگلاها به خوبی در این محیط رشد می کنند و هر دو قادر به تخمیر مانیتول موجود در محیط می باشند.چنانچه سالمونلا و شیگلا به تعداد کم در نمونه مدفوع وجود داشته باشد (معمولاً در کریرها) برای جداسازی آنها می توان از این محیط مغذی استفاده نمود.۶-۴ ساعت بعد از تلقیح ، GN براث کدورت واضح ایجاد می کند و باید بعد از این مدت روی محیطهای انتخابی کشت مجدد داده شوند.

محیطهای تتراتیونات براث و بریلیانت گرین اثر مهار کنندگی روی شیگلاها داشته و به عنوان محیطهای مغذی برای شیگلا مناسب نمی باشند.

واکنشهای بیوشیمیایی

خصوصیات بیوشیمیایی شیگلاها در جداول ۱و ۲ و ۳ به تفصیل آمده است.

۱- تخمیر کربوهیدراتها- اغلب سویه ها قندها را با تولید اسید و بدون ایجاد گاز ، تخمیر می کنند ، اگرچه بعضی از سویه ها مانند شیگلافلکسنری سروتایپ ۶ (واریته های Manchester و Newcastle) و شیگلا بوئیدی سروتایپ ۱۴ و ۱۳ گاز تولید می کنند.**همه سویه ها گلوکز را تخمیر می کنند.**

اکثر سویه ها قادر به تخمیر لاکتوز **در مدت ٢٤ ساعت یا طولانی تر** نمی باشند.هرچند اکثر سویه های شیگلا سونئی لاکتوز را بعد از چند روز تخمیر کرده و اسید تولید نمایند.

تست ONPG برای گروههای A ، B و C معمولاً منفی است ، اما شیگلا دیسانتری تیپ ۱ و شیگلا بوئیدی ۹ و فلکسنری ۲a و همه **سویه های شیگلا سونئی ONPG مثبت اند.**

تخمیر مانیتول ، تست مهمی است ، زیرا سویه های گروه A مانیتول را تخمیر نمی کنند و بر اساس این تست از گروههای B ، C و D که اغلب مانیتول را تخمیر می کنند ، متمایز می شوند.اما بعضی از سویه ها مانیتول منفی اند ، مثل شیگلا فلکسنری سروتایپ ۶ واریته Newcastle و شیگلا فلکسنری سروتایپ a ۴ بیوتایپ rabaulensis.

اکثر شیگلاها قند دلیستول را تخمیر نمی کنند ، اما شیگلا فلکسنری سروتایپ ۶ و شیگلا دیسانتری سروتایپ ۵ دولیستول را تخمیر می نمایند.

شیگلاها سوکروز را تخمیر نمی کنند ، به استثناء شیگلا سونئی و بعضی از سویه های فلکسنری زمانی که برای چند روز اتوگذاری شوند سوکروز را تخمیر می کنند.

سالیسین را به استثناء سویه های نادری از شیگلا سونئی تخمیر نمی کنند.

آدونیتول و اینوزیتول را هم تخمیر نمی نمایند.

۲- تولید اندول- شیگلادیسانتری سروتایپ۱ و شیگلا فلکسنری سروتایپ۶ و شیگلا سونئی معمولاً اندول منفی اند.سایر سویه ها نسبت به این واکنش متفاوتند.

۳- تست کاتالاز- شیگلاها مانند سایر انتروباکتریاسه ها **کاتالاز مثبت** اند.اما شیگلا دیسانتری سروتایپ ۱ و تعداد کمی از سویه های شیگلا فلکسنری (اغلب سروتایپ ۴a) کاتالاز منفی اند.

٤- تست دکربوکسیلاز- اعضا گروههای A ، B و C لیزین و اورنیتین را دکربوکسیله نمی کنند ، اما شیگلا بوئیدی ۱۳ اورنیتین را دکربوکسیله می کند.هرچند لیزین را دکروبوکسیله نمی نماید.

۵- سایر تست های بیوشیمیایی شیگلاها : اوره منفی ، متیل رد مثبت ، VP منفی ، سیترات منفی ، KCN براث منفی ، گلوکونات منفی ، مالونات منفی ، فنیل آلانین دآمیناز منفی ، ژلاتین منفی و H_2S منفی می باشند.

Tabel 2-2

Characteristics of the genus Shigella[a]

Test or Substrate	Result
β-Galactosidase	D[b]
Simmons' citrate	−
Christensen's citrate	−
Sodium acetate	D[c]
Arginine decarboxylase	−
Lysine decarboxylase	−
Ornithine decarboxylase	D[d]
Gelatin liquefaction	−
Gluconate	−
H_2S (triple sugar iron agar)	−
Indole production	D[e]
KCN, growth in	−
Malonate utilization	−
Methyl red test	+
Voges-Proskauer test	−
Phenylalanine deaminase	−
Urease	−
Motility	−
Glucose:	
Acid	+
Gas	D[f]
Acid from:	
Adonito	−
Cellobiose	−
Dulcitol	−
Inositol	−
Lactose	D[g]
Mannitol	D[h]
Raffinose	D
Salicin	−
Sucrose	D[i]
Xylose	−

[a] Symbols: see standard definitions.

[b] Strains of *S. dysenteriae* 1 and *S. sonnei* are positive; positive strains of *S. flexneri* 2a and *S. boydii* 9 have been described.

[c] Some biovars of *S. flexneri* 4a are positive; all other biovars are negative.

[d] Strains of *S. boydii* 13 and *S. sonnei* are positive.

[e] Some strains of some serovars of *S. dysenteriae*, *S. flexneri* and *S. boydii* produce indole while strains of other serovars are always negative. *S. sonnei* is always negative.

[f] Some biovars of *S. flexneri* 6 are positive; positive strains of *S. boydii* 13 and 14 have been described.

[g] Strains of *S. sonnei* are usually positive after several days of incubation; positive strains of *S. flexneri* 2a and *S. boydii* 9 have been described.

[h] Strains of *S. dysenteriae* are negative; negative biovars of *S. flexneri* 4a ("*S. rabaulensis*," "*S. rio*") and *S. flexneri* 6 (Newcastle biovar) occur; negative biovars of *S. sonnei* occur rarely.

[i] Strains of *S. sonnei* are usually positive after several days of incubation.

جدول -٢

Differential characteristics of the species of the genus Shigella[a]

	S. dysenteriae	*S. flexneri*	*S. boydii*	*S. sonnei*
β-Galactosidase	D[b]	−	D	+
Ornithine decarboxylase	−	−	−[c]	+
Gas from glucose[d]	−	−	−	−
Acid from:				
Dulcitol[e]	−	−	−	−
Lactose	−	−	−	(+)[f]
Mannitol	−	+	+	+
Raffinose	−	D	−	(+)[f]
Sucrose	−	−	−	(+)[f]
Xylose	−	−	D	
Indole production[g]	D	D	D	

[a] For symbols see standard definitions.

[b] *S. dysenteriae* 1 strains are positive; some other serovars are sometimes positive.

[c] *S. boydii* 13 strains are positive.

[d] Gas production from glucose: only certain biovars of *S. flexneri* 6, and of *S. boydii* 13 (Rowe et al., 1975) and *S. boydii* 14 (Carpenter, 1961) are aerogenic.

[e] *S. dysenteriae* 5 and *S. flexneri* 6 may ferment dulcitol.

[f] (+), positive reaction delayed (more than 24 h).

[g] *S. dysenteriae* 1, *S. flexneri* 6 and *S. sonnei* never produce indole, while strains of *S. dysenteriae* 2 always produce indole.

جدول -٣

le 2.4 Biochemical reactions of *Shigella* species and serotypes.
; +, positive reaction (sugars fermented in 24 h); −, negative reaction; [a], negative at 24 h, late positive at 2–8 days; +/−, some strains positive,
rs negative; (c), see text for exceptions.

ıp	Species, serotype and variety	Gas from glucose	Acid produced in fermentation of					Indole production	Catalase reaction	Lysine decarboxylase	Ornithine decarboxylase
			lactose	mannitol	dulcitol	xylose	sucrose				
	S. dysenteriae										
	1 (S. shiga)	−	− (c)	−	−	−	−	−	−	−	−
	2 (S. schmitzi)	−	−	−	−	−	−	+	+	−	−
	3–10	−	−	−	− (c)	−	−	+/−	+	−	−
	S. flexneri										
	1–5, X and Y	−	−	+ (c)	−	− (c)	− (c)	+/−	+ (c)	−	−
	6, variety 88	−	−	+	+/−	−	− (c)	−	+	−	−
	6, variety Newcastle	+	−	−	−[a]	−	− (c)	−	+	−	−
	6, variety Manchester	+	−	+	−[a]	−	− (c)	−	+	−	−
	S. boydi										
	1–15	− (c)	−	+	+/−	+/−	−	+/−	+	−	− (c)
	S. sonnei	−	−[a]	+	−	+/−	−[a]	−	+	−	+

باکتریهایی که باید از شیگلاها افتراق داده شوند

چند باسیل گرم منفی وجود دارند که در تعداد زیادی از واکنشهای بیوشیمیایی به شیگلاها شبیه هستند.بعضی از آنها آنتی ژنهای مشترکی با بعضی از سروتایپهای شیگلا دارند.این باکتریها ممکن است با شیگلا اشتباه شوند.بخصوص یک یا چند واکنش بیوشیمیایی در بعضی از سویه های شیگلا با الگوی تیپیک خصوصیات شیگلاها مطابقت ندارند.این باکتریها عبارتند از :

سالمونلا– هنگامیکه فقط چند تست بیوشیمیایی محدود برای تشخیص میکروارگانیسم بکار رود ، سویه هایی از سالمونلا که گاز تولید نمی کنند وغیر متحرک می باشند ممکن است با شیگلا اشتباه شوند.تستهای بیوشیمیایی بیشتر برای تشخیص سالمونلاها از شیگلاها عبارتند از : استفاده از نیترات ، تولید SH_2 ، دکربوکسیله کردن لیزین و اورنیتین و آلگوتیناسیون با آنتی سرمهای O و H سالمونلا.

گروه Alkalescenes Dispar (A-D) که امروزه Inactive E.Coli (ایکلای غیر فعال) خوانده می شود.گروهی از ایکلای ها هستند که غیر متحرک و لاکتوز منفی هستند ، گاز تولید نمی کنند.این گروه ممکن است در آزمایشات بیوشیمیایی اولیه شبیه شیگلاها باشند و بعضی از سویه های آن دارای آنتی ژنهای مشترک با سروتایپهای خاصی از شیگلا می باشند.سویه های A-D بوسیله دکروبوکسیله کردن لیزین از شیگلاها تشخیص داده می شوند.همچنین به کار بردن آنتی سرمهای اختصاصی برای تشخیص شیگلاها مفید می باشد.

هافنیا– باسیلهای لاکتوز منفی هستند که بوسیله تستهای زیر از شیگلاها تشخیص داده می شوند : حرکت مثبت ، گلوکونات ، مالونات و اورنیتین در کربوکسیلاز مثبت و سیترات مثبت هستند.آنتی ژنهای O بعضی از سویه های هافنیا با سروتایپهای خاصی از شیگلا فلکنسری سروتایپ 4a و شیگلا بوئیدی سروتایپ ۱۱ شبیه است.

پرووِیدنسیا– اینها ارگانیسم های لاکتوز منفی هستند که بوسیله حرکت و توانائیشان در دآمینه کردن فنیل آلانین از شیگلاها متمایز می شوند.

پلزیوموناس شیگلوئیدس– این ارگانیسم لاکتوز منفی بوده و گاز تولید نمی کنند و با شیگلا سونئی (زیر گروه D) آنتی ژنهای مشترکی دارد و می تواند واکنش های سرولوژیکی ایجاد نماید.پلزیوموناس شیگلوئیدس بوسیله تست های حرکت مثبت ، **اکسیداز مثبت** ، اندول مثبت و عدم تخمیر مانیتول از شیگلاها متمایز می شود.

تشخیص آزمایشگاهی

تشخیص آزمایشگاهی باسیل دیسانتری تنها بر اساس جدا سازی آن از مدفوع انجام می شود ، زیرا به ندرت از اندامهای دیگر بدن غیر از روده جدا شده اند.کشت مثبت مدفوع اسهالی عملاً شیگلوز تشخیص داده می شود هرچند ممکن است شیگلاها در مدفوع کریرهای مزمن نیز وجود داشته باشند.

بررسی میکروسکوپی

در بیماری شیگلوز حاد ، مدفوع اسهالی همراه با خون می باشد و لازم است مدفوع از نظر دیسانتری آمیبی نیـز بررسـی شـود.یـک لام مرطوب از سوسپانسیون مدفوع در سالین تهیه می کنیم که در این لام ، اریتروسیت و پلی مورفهـای زیـاد و تعـداد ماکروفـاژ مـشاهده می شود.باید توجه نمود که ماکروفاژها با شکلهای تروفوزوئیت انتامباهیستولیتیکا اشتباه نکنیم.این آمیب هسته نـسبتاً کـوچکتری دارد و معمولاً در نمونه های تازه و گرم متحرک می باشند.

کشت مدفوع

آزمایش باید بر روی مدفوع تازه انجام شود.نمونه ها باید در مرحله حاد بیماری و قبل از اسـتفاده از آنتـی بیوتیـک جمـع آوری شـود ، و بعد از جمع آوری هرچه سریعتر کشت داده شوند.(حاکثر طی ۲ ساعت) و در غیر ایـن صـورت یخچـال گـذاری شـوند و یـا بـه محـیط نگهدارنده مناسب انتقال داده شوند.(حداکثر طی دو سال) و در غیر این صورت یخچال گذاری شود و یا بـه محـیط نگهدارنـده مناسـب انتقال داده شود.بهترین محیط برای زنده ماندن شیگلاها محـیط بـافر گلیـسرل فـسفات (PH7) و همچنـین محـیط کـری بلـر مـی باشند.بخصوص اگر این محیط ها در یخچال یا فریزر نگهداری شوند.

جداسازی شیگلا از مدفوع معمولاً بوسیله کـشت مـستقیم بـر روی محیطهـای کـشت انتخـابی انجـام مـی شـود، البتـه مـی تـوان از محیطهای مغذی مایع مانند GN براث نیز استفاده نمود.نمونه مدفوع باید بر روی یک محیط با خصوصیات مهار کننـدگی پـایین مثـل مک کانکی یا EMB آگار و یک محیط انتخابی با قدرت مهار کنندگی زیاد مثل هکتـون انتریـک HE یـا XLD آگـار کـشت داده شود.بعد از یک شبانه روز اتوگذاری در $37^{\circ}c$ کلنی های لاکتوز منفی را برای انجام آزمایشات بیوشـیمیایی انتخـاب مـی کنـیم.کلنـی های شیگلا روی محیط مک کانکی بی رنگ و روی محیط XLD صورتی شفاف یا قرمز و روی محـیط HE بـصورت کلنـی هـای سبز رنگ مشاهده میشود.تشخیص بیوشیمیایی باید همراه با واکنش آگلوتیناسیون و با استفاده از آنتی سرمهای اختصاصی انجام شود.

*** استفاده از محیط SS به دلیل مهار رشد برخی از گونه های شیگلا مانند شیگلا دیسانتری تایـپ۱ بـه هـیچ وجه توصیه نمی شود.**

تشخیص سرولوژیک

اگر آزمایشات بیوشیمیایی اولیه احتمال وجود شیگلا را نشان می دهد ، آزمایش آگلوتیناسیون بـا اسـتفاده از آنتـی سـرمهای پلـی والان گروههای A ، B ، C و D انجام می شود.هر آزمایشگاه بالینی باید آنتی سرمهای پلی والان شیگلا را در اختیار داشته باشد.

اگر یک باکتری مشکوک به شیگلاست ، اما با آنتی سرمهای پلی O آگلوتینه نمی شود ، به وجود آنتی ژن کپـسولی k مـشکوک مـی شویم ، که ممکن است آنتی ژنهای O را پوشانده باشد.برای از بـین بـردن ایـن آنتـی ژن سوسپانـسیون میکروبـی در ml ۰/۵ نرمـال سالین تهیه کرده ، آنرا به مدت ۱-۰/۵ ساعت در $100^{\circ}c$ حـرارت مـی دهـیم.بعـد از خنـک شـدن ، سوسپانـسوین را مجـدداً بـا آنتـی سرمهای پلی والان O آزمایش می کنیم.

سوشهایی که با آنتی سرمهای پلی والان شیگلا واکنش آگلوتیناسیون مثبت نشان می دهند ، برای تعیین سروتایپ باید به آزمایشگاههای مرجع فرستاده شوند.

آزمایش تعیین حساسیت میکروبی

در اغلب موارد بیماری شیگلوز خفیف ، بدون درمان با آنتی بیوتیک بهبود می یابد.برای درمان موارد شدید بیماری می توان از آنتی بیوتیکهای زیر که بوسیله W.H.O پیشنهاد شده است.آمپی سیلین ، کوتریموکسازول ، نالیدیکسیک اسید یا تتراسایکلین برای آزمایش تعیین حساسیت میکروبی و جستجوی سویه های مقاوم به چند آنتی بیوتیک که امروزه در اغلب کشورهای گرمسیری در حال افزایش است استفاده نمود.

برای درمان سویه های مقاوم ، فلوئوروکینولونها (نورفلوکساسین ، سیپروفلوکساسین ، افلوکساسین) موثر می باشند.