عزل بكتريا Shigella في ذبائح فروج اللحم المجمدة المنتج محليا في محافظة ديالى

شكر محمود ياسين

جامعة ديالى - كلية الطب

الخلاصة

هدفت الدراسة الى معرفة درجة تلوث منتجات اللحوم البيضاء لذبائح فروج اللحم المجمدة المنتجة محليا في محافظة ديالى بأعداد بكتيريا Shigella المسببة للتسمم الغذائي الملوثة لهذه المنتجات وتأثيرها في الصحة العامة، جمعت 60 عينة من منتجات لحوم ذبائح فروج اللحم المنتج من قبل المربين المحليين وبمعدل 30 عينة لكل من الموسم الصيفي لشهر (تموز و آب) والموسم الشتوي لشهر (كانون الأول و كانون الثاني) لدراسة محتواها البكتيري من بكتيريا Shigella . اظهرت النتائج ان هناك فرقا معنويا ($p<0.01$) في عينات كلا الموسمين الصيفي والشتوي . وهناك ايضا فرقا معنويا ($P<0.01$) في معدلات العد الكلي لبكتيريا Shigella (CFU/g وحدة تكوين المستعمرات / غرام) للموسم الصيفي عن الموسم الشتوي .

الكلمات المفتاحية : الفروج المجمد ، بكتيريا Shigella SPP. ، الوسائل الثقافية

Detection of *Shigella* Spp. In the Locally Produced Broilers Freeze in Diyala

Shukr M. Yaseen

College of Medicine - Diyala University

Received 4 March 2015 ; Accepted 14 June 2015

Abstract

The study conducted to indicate the contamination degree in the locally produced of broilers freeze meat that caused of food poisoning by determined of Shigella SPP bacteria, and its effect in public health with experimentally comparative measurements of *Shigella* spp. 60 samples of locally produced broilers were been collected, 30 samples to each summer (July – August) and winter (December – January) to investigate their microbial load of this bacteria. The results showed in all summer and winter samples were differential significant ($p<0.01$) microbial count of *Shigella* spp .and we showed the same significant ($p<0.01$) of CFU/ g of shigella bacteria count from summer neither than winter.

Key words: Freeze Broilers, Shigella SPP., TBC, Cultures medias**.**

المقدمة

لقد كانت ومازالت الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان منتشرة بشكل واسع في مختلف بلدان العالم ولمنتجات الحيوان الحظ الأوفر والمهم في انتقال هذه الأمراض إلى الإنسان (1) . وللحوم البيضاء المنتجة محليا لمربي فروج اللحم الدور الكبير في نقل العديد من المسببات المرضية للإنسان بسبب ارتفاع محتواه البكتيري الناتج عن عدم استخدام المعاملات الحرارية أو عدم استخدام هذه المعاملات بشكل كافي للقضاء على البكتيريا المرضية الموجودة في هذه المنتجات المعدة للتصنيع أو نتيجة التلوث الحاصل بسبب الطرق البدائية المتبعة أثناء عمليات الذبح والنقل والتداول (2 ;3) ، وعلى هذا الأساس وبسبب الافتقار مثل هذه المنتجات للشروط الصحية فان المعاملات الحرارية الصحيحة ستؤدي إلى القضاء على هذه البكتيريا التي تتواجد فيها والعمل على اختزال تلوثها البكتيري(4) . وان وجود التلوث بهذه اللحوم يلعب دور كبير في تحديد نوعيته من خلال التغييرات التي تطرأ عليه وبالتالي إطالة فترة صلاحيته للاستهلاك البشري (5)

تعد الاصابة ببكتيريا Shigella المشكلة الرئيسية في البلدان النامية بسبب الافتقار للنظافة ، ويعد الماء والغذاء الملوث ببراز الإنسان الملوث المصدر الرئيسي للإصابة ، بالإضافة الى الخضراوات الملوثة ببراز المصابين ، ويمكن أن ينقل الذباب البكتيريا عن طريق البراز الملوث وحمل المسبب بواسطة الارجل والاجنحة ، ويقل استعداد البالغين للإصابة بسبب ارتفاع مستوى المناعة وأتباع عادات النظافة الشخصية والتي تقل عند الأطفال [6]. وتعد Shigella المسبب لـ 10-20 % من حالات الاصابة الناتجة في الغذاء وهناك ارتفاع في نسب الإصابة و الوفيات بين الأطفال الذين يشكلون 30% من مجموع الإصابات [7]. وفي البلدان المستوطنة للإصابة فان Shigella مسؤولة عن حوالي 10% من جميع حالات الإسهال و 75% من حالات الوفاة الناتجة عن الإسهال [8] . ويحدث ما يقارب 300 ألف حالة شيكيلوسس shigellosis سنويا في الولايات المتحدة [9]، وشكلت ما يقارب 10% من الوفيات outbreaks المسجلة هناك من الإصابات المحمولة بالغذاء [10] ، فخلال الفترة المحصورة ما بين 1993-1997 سجلت هناك 43 حالة وفاة للمسبب المحمول بالغذاء في هذا البلد مقارنة مع1555 حالة كانت بدون حالة وفاة [11] ، كما سجلت سابقا عدة حالات وفاة بالمسبب ما بين سنة 1920 – 1960 بما يعادل 4% من جميع الحالات المسجلة للإصابة و حدثت تلك الحالات نتيجة تناول الغذاء الملوث ببكتيريا *S. dysenteries* عن طريق الأشخاص المصابين ، وفي عام 1952 سجلت وفيات لنوع *S. sonnei* ناتجة عن استهلاك لحوم غير معاملة جيدا بالمعاملات الحرارية [12 ;13] . و في الاتحاد السوفيتي السابق سجلت حالات من المرض مرتبطة بمنتجات اللحوم المتأثرة باستعمال الماء الملوث بـ *S. sonnei* خلال عمليات التصنيع [14] . كذلك الاصابة بالمسبب لمنتجات اخرى في فرنسا عام 1982 وقعت وفيات بالمسبب ناتجة عن استهلاك البيرغر الملوث بـ *S. sonnei* [15] . إن أهم ما يميز الغذاء الملوث بالبكتيريا هو عدم حصول أي تغير في طعم ولون ورائحة الغذاء مما يصعب تمييزه والحذر منه وإن تزايد حدوث الإصابات بأنماط Shigella المقاومة للمضادات الحياتية سبب صعوبة بالسيطرة عليها وعلاج الحالات الناتجة منها [16].

اكتشفت بكتيريا Shigella لأول مرة عام 1897 من قبل عالم الأحياء المجهرية الياباني (Kiyoshi Shiga) وذلك خلال تحقيقه في وفيات وباء الزحار (*sekiri*) حيث تم تسجيل حدوث 90 ألف حالة ، ووصلت نسبة الوفيات فيها بين البشر إلى 30% حيث قام بعزل عصيات بكتيرية من عينات البراز وأطلق عليها آنذاك بالعصيات الزحارية (*Bacillus*

(*Shigella dysenteriae* type 1) وهي ما تعرف الآن بالشيكيّلا الزحارية نمط واحد *dysenteriae*) حيث تم إطلاق اسمه على جنس هذه البكتيريا فيما بعد تشريفا [19;18;17]. وتشير المصادر بان الطبيب الكاتب الإغريقي أبقراط (Hippocrates; 460 B.C) هو أول من وثّق ووصف حدوث حالات الزحار dysentery [22;21;20].

يعود جنس بكتيريا Shigella إلى عائلة البكتيريا المعوية (Enterobacteriacae) وهو جنس سالب الكرام ، عصوية الشكل غير متبوغة ، غير متحركة ، اختيارية تنمو في وجود أو عدم وجود الأوكسجين بدرجة حرارة تتراوح ما بين 7-46 م ودرجة الحرارة المثلى لها 37 م ، تتحمل التجميد و 5% ملح واس هيدروجيني 4,5، وهي حساسة بدرجة كبيرة للمعاملات الحرارية ومنها البسترة، وتنتج العتر الضارية من البكتيريا ذيفان (Shiga toxin) وتتصل Shigella اتصالا وثيقا بالايشيريكيا القولونية و السلمونيلا (23;6) وتصنف Sgigella إلى أربع مجاميع مصلية serogroups رئيسية ذات أنماط مصلية serotypes مبينة بالجدول (1) :-

جدول (1) : يبين انواع المجاميع المصلية serogroups والانماط المصلية serotypes لها واسمائها ليكتريا Shigella Spp.

No.of serogroups	species serogroups	Shigella Spp.	No. Of serotypes
1	A	S. dysenteriae	12
2	B	S. flexneri	6
3	C	S. boydii	18
4	D	S. sonnei	1

إن مرض الشيكيلوسس (Shigellosis) أو ما يعرف بالزحار العصوي (bacillary dysentery) يتميز بوجود براز مخاطي دموي والمسبب هو Shigella ونادرا ما يحدث المرض بالحيوان بمعزل عن الإنسان خاصة بالمقدمات كالقرود والشمبانزي، و هناك عدة دراسات حديثة تبحث عن امراضية ومقاومة البكتريا للدواء والتي تشكل عقبة حقيقية في البلدان الفقيرة والنامية لانخفاض المستوى الصحي فيها بسبب عوامل كثيرة وعدم استخدام تقنيات متقدمة لتشخيص وعزل المسبب الملوث للغذاء (6 ; 24) . وتهدف هذه الدراسة لعزل وتشخيص المسبب المرضي باتباع تقنيات معروفة من منتجات ذبائح فروج اللحم المحلي المجمد على مدى الموسم الصيفي والشتوي و لمعرفة ومقارنة درجة تلوث هذه المنتجات بالمسبب المرضي .

المواد وطرائق العمل

تم جمع 30 عينة دجاج لحم مربى محليا ومجمد خلال فصل الصيف شهر (تموز واب) حيث كانت 6 عينات دجاج من كل منطقة (سوق بعقوبة والتحرير والمفرق وبني سعد وبهرز) ووضعت في حافظة مع الثلج ، وجمعت أيضا نفس عدد العينات من نفس المناطق المذكورة خلال فصل الشتاء (كانون الاول والثاني) وبنفس الطريقة، تم نقلها الى المختبر ، واجريت الفحوصات المختبرية التالية :-

أولا :- الفحوص المايكروبايولوجية :

A - العد البكتيري الكلي : (Total Bacterial Count (TBC

اتبعت طريقة العد القياسي بالأطباق Standard Plate Count (SPC) لحساب العد البكتيري الكلي حيث تم اخذ 11 غم من أجزاء مختلفة من العينة ووضعت في الخلاط أضيف لها 99 مل من 2 % محلول سترات الصوديوم درجة حرارته 45 م ومزجت على السرعة العالية لمدة 5 دقيقة إلى أن تم الحصول على العينة كسائل وأجريت على العينة سلسلة من التخافيف العشرية واستعمل طبقين للتخفيف الواحد ونقل 1مل و0.1 مل من المخفف إلى كل طبق وحضر وسط أكار العد بالأطباق plate count agar وصب في أطباق تخافيف العينة وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 32 م ولمدة 48 ساعة وحسبت أعداد مستعمرات البكتيريا المتكونة (23) .

B - عزل وتشخيص بكتيريا Shigella :- تم وفق مراحل الخطوات التالية :

1- مرحلة الزرع في المرق المغذي الببتون (peptone water) .
2- مرحلة الزرع على المرق الانتقائي مكونكي (McKonky) .
3- أجراء الاختبارات الكيموحيوية التاكيدية للتشخيص النهائي وهي اختبار :- (Motility , Oxidize , TSI)

ثانيا :- الفحوص التأكيدية :-

بعد تشخيص البكتيريا اعتمادا على (23) ، أخذت عروة ناقلة قياسية واحدة Standard Platinium 1Loopfil من مستعمرات البكتيريا النقية المنماة وتمت زراعتها في المرق المغذي الببتون وحضنت بدرجة حرارة 37م ولمدة 48 ساعة بعدها تم اخذ 1مل من المرق المغذي الببتون المزروع وأجريت التخافيف العشرية المطلوبة مع محلول دارئ الفوسفات وحسبت عدد البكتيريا في كل 1 مل من المرق .

ثالثا : الطرق الاحصائية :-

استخدمت الطرق الاحصائية المتبعة لتحليل النتائج وذلك وفق تحليل التباين (ANOVA) .

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج التحليل الميكروبيولوجي بان عينات لحم فروج اللحم المربى محليا المجمد والتي جمعت من أسواق خمسة مناطق تابعة لقضاء بعقوبة في محافظة ديالى وبمعدل 30 عينة لكل من الموسم الصيفي من بداية تموز إلى نهاية آب والموسم الشتوي من بداية كانون الأول إلى نهاية كانون الثاني وجميع هذه العينات كانت ذات مستوى متدن من الناحية الصحية والنوعية وغير مطابقة للمواصفات المحلية والدولية من ناحية تحضيرها وحفظها وتداولها من قبل البائع والمستهلك .

جدول (2) العزل البكتيري لل Shigella / غم من نماذج العينات خلال فترة التجربة

الشهر	عدد العينات الكلي/ عدد العينات الموجبة	نسبة العزل %	معدل العد البكتيري لمستعمرات Shigella/غم . CFU/g
تموز	9/15	60	$10^3 \times 2.7$
آب	8/15	53.3	$10^3 \times 3.2$
كانون الأول	7/15	46.6	$10^1 \times 7.5$
كانون الثاني	6/15	40	$10^1 \times 6.8$
الكلي	30/60	50	$10^2 \times 5.1$

تبين نتائج جدول (2) بان عدد العينات الموجبة إلى عدد العينات الكلي كانت بحدود نصف العدد الكلي للعينات 50% وان عدد العينات الموجبة كانت اعلى بالموسم الصيفى (56/7%) مقارنة بالموسم الشتوي (43/3 %) ، ونسب العزل ايضا نصف العدد للعينات وكانت اعلى بالموسم الصيفي مقارنة بالشتوي ، ومعدلات العد الكلي لبكتيريا Shigella في العينات للموسمين الصيفي لشهر تموز واب كانت عالية مقارنة بالموسم الشتوي لشهر كانون اول وكانون الثاني ، ونجد أن نسب المعدل الكلي لمعدلات تواجد بكتيريا Shigella (CFU/g) في هذه العينات كان 50% .

جدول (3) نسب العزل ومعدل العد البكتيري Shigella/ غم في محلات المناطق الشعبية

المنطقة الشعبية	عدد العينات الكلي/ عدد العينات الموجبة للموسم الصيفي	عدد العينات الكلي/ عدد العينات الموجبة للموسم الشتوي	عدد العينات الكلي / عدد العينات الموجبة	نسبة العزل %	معدل العد البكتيري لمستعمرات Shigella/غم (CFU/g).
بهرز	4/6	3/6	7 / 12	58.3	$10^3\times$ 1.4
بني سعد	4/6	3/6	7 / 12	58.3	$10^3\times$ 1.8
بعقوبة	2/6	2/6	4 / 12	33.4	$10^1\times$ 3.7
المفرق	4/6	2/6	6 / 12	50	$10^1\times$ 4.2
التحرير	3/6	3/6	6 / 12	50	$10^3\times$ 4.2
الكلي	17/30	13/30	30 /60	50	$10^2\times$ 5.1

تبين نتائج جدول (3) عدد العينات الموجبة إلى عدد العينات الكلي للموسم الصيفي ، لوحظت بانها مرتفعة قليلا بالنسبة ما بين مناطق بهرز وبني سعد والمفرق حيث سجلت 4 / 6 لكل منها ، والتحرير 6/3 وبعقوبة 2/ 6 مقارنة بالموسم الشتوي لنفس المناطق حيث كانت 6/3 لمناطق بهرز وبني سعد والتحرير و6/2 لمناطق بعقوبة والمفرق ، لكن لا تسجل أي فروق معنوية ما بين المجاميع لنفس الموسم . وحسبت عدد العينات الموجبة لعدد العينات الكلي للمنطقة الواحدة للموسمين حيث لوحظت انها مرتفعة 12/7 لمناطق بهرز وبني سعد تلتها المفرق والتحرير12/6 مقارنة بيعقوبه 12/4، كما لوحظت نسب العزل ومعدلات العد الكلي للبكتيريا في العينات للمناطق التي تم جمع العينات منها للموسمين الصيفي والشتوي معا حيث لوحظت انها مرتفعة في بهرز وبني سعد ،تليها المفرق ثم التحرير واخيرا منطقة بعقوبة، وأن نسب المعدل الكلي لمعدلات تواجد هذه البكتيريا CFU/g في هذه المنتجات كان 50% للموسمين .

جدول (4) مقارنة معدلات العد البكتيري للعينات لكل من الموسم الصيفي والشتوي

CFU وحدة قياس المستعمرات	الموسم الصيفي العد البكتيري الكلي ± الخطأ القياسي SE	الموسم الشتوي العد البكتيري الكلي ± الخطأ القياسي SE	مستوى المعنوية
العد البكتيري الكلي TBC	$\pm10^2\times12.083$ -$10^2\times1.80$ $10^2\times0.086$	$\pm10^2\times9.5$ -$10^2\times1.20$ $10^2\times0.087$	** اختلاف عالي المعنوية (P<0.01)
عد Shigella /غم CFU/ g	$\pm10^2\times11.5$-$10^2\times$ 5.1 $10^2\times16.18$	$\pm10^2\times27.5$-$10^2\times$ 5.1 $10^2\times0.377$	** اختلاف عالي المعنوية (P<0.01)

تؤكد نتائج جدول (4) إن لفصول السنة المختلفة تأثير واضح على العد البكتيري الكلي TBC لبكتيريا Shigella حيث أظهرت النتائج هناك زيادة في معدلات العد الكلي للبكتريا للموسم الصيفي مقارنة بالموسم الشتوي حيث سجلت وجود فرقا معنويا ($P<0.01$) في معدلات العد البكتيري الكلي CFU/g للموسم الصيفي عن الموسم الشتوي ويعزى هذا العد المرتفع إلى أسباب كثيرة منها سوء التحضير والتصنيع وعدم كفاءة المعاملات الحرارية المستعملة وملائمة درجة حرارة الجو لنمو وتكاثر هذه البكتيريا وهذا يتفق مع (2و13) فيما يخص زيادة معدلات نمو البكتيريا عند زيادة درجة الحرارة الى الدرجة المثلى لنموها وعدم كفاءة المعاملات الحرارية وحصول زيادة بطرح البكتيريا مع الفضلات خلال موسم الصيف مما تكون عرضة لتلوث الماء والغذاء . ويتفق مع (1) فيما يخص سوء تطبيق القوانين الصحية عند الإنتاج والتسويق والحفظ والعرض إضافة إلى التكاثر السريع للبكتيريا في هذه المنتجات عندما تصبح درجة حرارته قريبة من الدرجة المثلى لنموها خلال الموسم الصيفي ، و يتفق مع (23) فيما يخص تعرض اللحوم هذه الى ظروف التبريد والإذابة المتكررة أثناء فترة الخزن وهذا موجود في بلدنا بسبب انقطاع التيار الكهربائي بالإضافة إلى بقاءها لفترات طويلة في محلات البيع وعدم استهلاكها بوقت قصير من قبل المستهلك مما يعرض هذه المنتجات الى التلوث بهذه البكتيريا.

كما ويلاحظ أيضا من نتائج جدول (4) وجود فرقا معنويا ($P<0.01$) في معدلات العد الكلي CFU/g لبكتيريا Shigella للموسم الصيفي عن الموسم الشتوي ويعزى هذا الارتفاع في عدد البكتيريا للأسباب المتقدمة اعلاه بالإضافة الى تدني المستوى الثقافي والمادي والجهل في المناطق الشعبية التي تضعف فيها تطبيق القوانين الخاصة بالرقابة الصحية مقارنة مع مراكز المدن التي تكون خاضعة للتفتيش والرقابة الصحية على المنتجات الغذائية ومن ضمنها اللحوم بأنواعها جعل هناك زيادة في ظهور هذه البكتريا في المناطق الشعبية بالإضافة الى تكاثر الذباب وانتشار القاذورات والاوساخ في الشوارع كلها عوامل تؤدي الى زيادة فرص التلوث بالمسبب في الغذاء والماء وانتشاره السريع وتسببه في ظهور الامراض خاصة الاسهال ، كما لوحظ من النتائج إن هناك علاقة بين نمو وتكاثر البكتيريا ودرجات الحرارة المختلفة

خلال فصول السنة وهذا موجود في بلدنا حيث كانت نسبة معدلات البكتريا مرتفعة خلال موسم الصيف مقارنة مع فصل الشتاء عند انخفاض درجة الحرارة النسبي التي تكون معدلات العد البكتيري منخفضة نوعا ما فيه ، كما تتفق الدراسة مع (6) فيما يخص دور الذباب الذي ينتشر بكثرة في مناطقنا وخاصة الشعبية منها في نقل البكتيريا عن طريق البراز والقاذورات الملوثة الى المنتجات الغذائية ومنها اللحوم البيضاء ، وكذلك مع (14) فيما يخص تأثير استعمال الماء الملوث بالبكتيريا Shigella Spp. خلال فترة تصنيع اللحوم على محتواها البكتيري والتي تزداد هذه الظاهرة في كثير من المناطق الشعبية من بلدنا لعدم وجود الماء الصالح للشرب .

References

1. **FAO.(2014) :** the Food and Agriculture Organization of the United Nations . Summary of notifiable diseases *Country Resource Profile* .
2. **Gracey,J.F. ; Collins,D.S. and Huey,R.J.(1999) :** Meat Hygiene . 10th Ed. Wb Saunders Ltd . London , UK.

3. **Al-Zubaidy,R.S.A.(2004) :** The Use of Probiotics in Broiler Production . H.dip. study Vet.Pub.H. , (in Arabic) College of Veterinary Medicine .University of Baghdad.
4. **Saudi,A.M.(2002) :** Broiler Products . 1st Ed. Cairo University Publishing Center .
5. **Shukla,A.N.(2010) :** Textbook of Chemistry. 1st Ed. New Delhi .India.
6. **Bhunia,A.K.(2008) :** Food borne Microbial Pathogens Mechanisms and Pathogenesis , 15-*Shigella* species ,P.no. 253-64 Springer Science+Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA.
7. **Giannella,Ralph,A.(2010) :** "Infectious Enteritis and Proctocolitis and Bacterial Food Poisoning." *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. Ed. Mark Feldman, Lawrence S. Friedman, and Lawrence J. Brandt. 9th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier,1843-1887.
8. **Kumar,Vinay.(2009) :** "Infectious Entercolitis." *Kumar: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition*. Ed. William Schmitt. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier,.
9. **CDC(1998b) :** (Centers for Disease Control and Prevention). Summary of notifiable diseases, United States 1997. *Morbid. Mortal.Weekly Rep*. **46**, 1–87.
10. **10-FDA(2005) :** (Food and Drug Administration) *Shigella* spp. (available at http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap19.html, posted January 1992; accessed January).
11. **CDC(2000) :** (Centers for Disease Control and Prevention). Surveillance for foodborne disease outbreaks, 1993–1997. *Morbid. Mortal.Weekly Rep*. **49**(SS-1), 11.
12. **Bryan,F.L.(1979) :** Infections and intoxications caused by other bacteria. In: Riemann H, Bryan FL, eds. Food-Borne Infections and Intoxications. 2nd ed. New York: Academic Press, , p. 211.
13. **Bryan,F.L.(1983) :** Epidemiology of disease. J Food Prot 46:637,.
14. **Solodovnikov.I.P. and Aleksandrovskaia.IM.(1992) :** Multiyear observations of the dynamic epidemic process in sonne dysentery in a small district of Vladimir Province. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 9–10:41.
15. **Sharp,J.C.M.(1987) :** Infections associated with products in Europe and North America, 1980–85. Bull WHO 65:397.

16. **CDC(2009) :** Centers for Disease Control and Prevention. "Shigellosis: General Information", 16 Nov. 2009. Web. 14 July 2011. <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/shigellosis/>.
17. **Kiyoshi Shiga (1871-1957) :** History&Archives ,Wikipedia , the free encyclopedia .USA.
18. **Shiga,K.(1898) :** "Ueber den Erreger der Dysenterie in Japan", *Zentralbl Bakteriol Microbial Hyg* (Vorläufige Mitteilung) **23**: 599–600.
19. **Trofa,A.F ; Ueno-Olsen,H. ; Oiwa,R. and Yoshikawa,M.(1999) :** "Dr. Kiyoshi Shiga: discoverer of the dysentery bacillus", *Clinical Infectious Diseases* **29** (5): 1303–1306 .
20. **Wachsmuth,K. and Morris,G.K.(1989) :** *Shigella*. In: Doyle MP, ed. Food borne Bacterial Pathogens. New York: Marcel Dekker, , p 447.
21. **Elmer,H. ; Marth ; James L. Steele (2001) :** Applied Microbiology ,Ch.13, Public Health Concerns. **Shigellosis** : 2nd Edition USA. P.no.:502-03.
22. **DuPont , Herbert,L.(2010) :** "*Shigella* Species (Bacillary Dysentery)." *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Ed. Gerald M. Mandell, John E.Bennett, and Ralph Dolin. 7th Ed.Vol.1.Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier , 2905-2910. 2 vols.
23. **Bergey,D.H.(1923):** Berge's manual of Determinative Bacteriology . Vol.I . Family Enterobacteriaceae . Genus Shigella . Wikipedia , the free encyclopedia .USA.
24. **Cynthia,M.Kahn (2010):** The Merck Veterinary Manual . 10th Ed. Washington .USA. Digestive System section , Non Human Primates , Bacterial dis. GIT dis. Shigellosis, (Shigella spp.) : P.no. 1683 .