

## MYCOBAKTERIUM LAPRAE BAKTERİYOLOJİSİ (x)

Dr. Selahattin LELOĞLU (xx)

### ÖZET :

*Lepra basili Hansen tarafından 1873'de bulunmuş olup, 1960'a kadar bu basil üzerindeki çalışmalarda fazla başarılı olunamamış, sadece morfolojik özellikleri tarif edilmiştir.*

*1960'da Sheprad'ın fareler üzerindeki çalışmaları bu konuya önemli bir ışık tutmuştur. Bundan sonra çeşitli hayvanlar üzerinde çalışılmış ve bilhassa Armodilla'lardaki çalışmalarla bu alanda karanlık problemler aydınlanmaya başlanmıştır.*

*Yazımızda ayrıca bugün pratikte kullanılan bakteriyolojik tanı yöntemleri gözden geçirilmektedir.*

### GİRİŞ :

Lepranın etkeni olan M. Leprae, ilk defa 1868 de Hansen tarafından görülmüş ve bu buluşu 1873 de yayınlanmıştır (1-4). Dolayısıyla M. tuberculosisten 9 yıl önce keşfedilmiştir. Fakat, ondan sonraki çalışmalar sınırlı kalmıştır.

Ortalama 3-5 mikrometre boyunda ve 0,2-0,4 mikrometre eninde düz veya hafif bükük, hareketsiz, sporsuz gram pozitif ve aside-alkole dirençli bir basildir. Bu bakteri lepromlu lepralıların dokularında kümeler halinde bulunabilir. Bu kümelere globus veya (globi) adı verilir. Basillerin bir çoğu bir arada birbirlerine paralel sigara paketi veya çalı süpürgesi tarzında dizilmişlerdir. Globusun çapı 5-10 mikrometre kadardır. Basiller tek tek de görülebilmektedir (1-3-4-5). Globus görünümü lepraya özgül değildir. Tüberkülozda da balgam boyamalarında görülebilmektedir (5). Aside ve alkole direnç, hücre duvarı ve bilhassa mycolik asit ile ilgilidir.

M. leprae'nin boyanmasındaki aside ve alkole dirençlilik, diğer micobacterium türlerinden bazı ayrıcalıklar gösterir. Piridinle 2 saat süre karşılaştırılan yay-

(x) 28-30 Mayıs 1984 de Elazığ'da toplanan Lepra Simpozyumu'nda tebliğ edildi.

(xx) Ata. Üni. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğr. Üye. (Doç.Dr.)

ma ve kesme preparatlarda aside dirençlilik ortadan kalkar. Fakat gram boyası almasında bir değişiklik olmaz. Buna karşın piridin M. bovis ve M. lepramuri um'nun aside dirençliliğini kaldırmaz (1-5).

Bugüne kadar lepra basili yapma besiyerlerinde üretilmemiştir. Bununla beraber lepra basilinin bazı yapma besiyerlerinde üretildiğine dair bir çok yayın bulunmakta olup, bunlar da şüphe ile karşılanmaktadır. Ayrıca virus, üretmede kullanılan canlı hücreli besiyerlerinde de üretilmemiştir.

M. leprae'da jenerasyon süresi bazı yayınlarda 12-14 gün ve bazılarında da 20-30 gün olarak bildirilmektedir. Besiyerlerinde yavaş üreyen bakterilerden birisi olan M. tuberculosis'de jenerasyon süresi 13-17 saat olup, E. coli de ise yarım saattir (1-2-5). Bu yüzden besiyerlerinde E. colinin görülebilir bir kolonisi için 17-24 saat yeterli olduğu halde M. tuberculosis için 4-8 hafta gerekmektedir.

M. leprae'deki bakteriyolojik bilgilerde, 1873'den 1960'a kadar çok az ilerleme kaydedilmiştir. 1960'da Shepard beyaz farelerin ayak tabanlarında inokulasyon yaparak ürettiğini bildirmesi üzerine, lepra çalışmalarına yeni bir pencere açmış oldu (1-3-5). Bundan sonra çeşitli deney hayvanlarının (fare, sıçan ve hamster gibi) soğuk kısımlarında (ayak, testis vs.) inokulasyonlar yaparak çalışmalara başlandı. 1969'da Rees ve arkadaşları, timüsü çıkarılmış ve ışınlandırılmış farelerde M. leprae'nin 6 aydan sonra üretildiklerini bildirmişlerdir (6). Yani farelerde immunité baskı altına alındıktan sonra daha çabuk üretilbildiğini işaret etmektedirler. Farelerde derin dokularda yayılma yoktur. Noduller oluşturularak üremektedir.

M. Leprae'nin üç dönemde üremesi tamamlanmıştır.

- 1- Latent dönem, buna sürünceme dönemi de denebilir. 90 gün kadardır.
- 2- Logaritmik dönem 12-13 günlük bir süredir.
- 3- Duraklama dönemi 150-200 gün sürmektedir. Bu dönemde bakterinin adedi hiç artmaz veya bir miktarda azalır (1).

Kirschmeimer ve Storrs (7) 9 şeritli armadillos (*Dasyus novemcintus*) lar üzerinde yaptıkları denemeler daha önemli bir durumdadır. Bu hayvanlarda lepra basilleri daha kolay üremekte ve daha şiddetli hastalık yapmaktadır. Bu hayvanlara intravenöz injeksiyon yapmak suretiyle, generalize injeksiyon geliştirilmiştir. Bu hayvan Batı Dünyasında (Kuzey ve Güney Amerika'da, özellikle Texas ve Brezilya'da) olup, memleketimizde yoktur. Lepra basilleri burada fazlaca üretilince bakterinin yapısındaki incelemeler daha kolay yapılabilir.

Gerek insan ve gerekse armadillalardan elde edilen basillerde, sitokrom oksidaz fermentinin bulunduğu tesbit edildi. M. Leprae 3,4, dihydroxyphenylalanine (DO-PA), O-diphenoloxidanase ile mor renge çevrilir. Bu özellik lepraya özgüdür (1).

Klingmüller ve Sabich (8) kirpilere (*Erinaceus europeus*) inokulasyon yaparak ürettiklerini bildirmişlerdir.

Bu gün M. Leprae', kesin olarak hayvanlarda üretilmekte ve basil üzerinde çalışılmaktadır. Bunda herhangi bir şüphe yoktur. Ancak çok uzun süre ve karmaşık laboratuvar metodları istenmektedir. Rutin çalışmalarda yine eskiden beri kullanılan Ziehl Neelsen ve Floresan testleri uygulanmaktadır. Bu yüzden bunların üzerinde bir miktar durmak isterim.

#### Ziehl Neelsen Boyama Yöntemi

M. Leprae T.T (UÇ tuberculoid grup) ve BT. (Birleştirici tuberculoid grup) ta lezyonlardaki basil sayısı azdır. Dolayısıyla, Ziehl Neelsenla görülmemektedir. Fakat diğer formlarında basil fazlaca görülmektedir.

Bakteriyolojik inceleme için hastadan deri lezyonları, kulak kepçesi ve burundan olmak üzere üç yerden kesit alınıp, lam üzerinde yayma yaparak, Ziehl Neelsen boyası yapılır. Preparatlar havada kurutulduktan sonra alevde tesbit edilir. Çeşitli laboratuvarlarda ufak tefek farklarla, Ziehl Neesen boyası uygulanmaktadır.

— Boyama sehbasına yerleştirilmiş lam üzerine preparatı kapatacak kadar karbol fuksin süzgeç kağıdından geçirilerek dökülür.

Alttan ısıtarak 15 dakika kadar boyamaya bırakılır. Lam üzerindeki boya azalınca, üzerine yeniden eklenmelidir. Boya kurumamalı ve ısıtma buhar çıkacak kadar yapılmalıdır. Hiç bir zaman kaynamamalıdır.

— Lamlar akar su ile yıkanmalı,

— Renk gidermek için, asit alkole muamele yapılmalı,

— Tekrar yıkanmalı,

— Metilen mavisi ile 30 saniye boyandıktan sonra,

mikroskopta incelenerek, aşağıdaki tarzda değerlendirilir.

Ridley cetveline göre sonuçların, değerlendirilmesi (5).

1000 Mikroskop alanında	0	basil	0
100	''	''	+ 1
10	''	''	+ 2
1	''	''	+ 3
1	''	''	+ 4
1	''	''	+ 5
1	''	''	+ 6
1	''	''	+ 6,5

#### Floresan Boyama Yöntemi

Kuper ve May (1960) tekniği uygulanır. Ancak Ziehl Neelsen boyasının da buna paralel yapılması gerekmektedir. Özel mikroskop ve boyalar uygulanmaktadır.

Auromine O-Rhodamine B Boyama (10)

Auromine O-CC (14-100 D) 1.5 g.

Rhodamine B (D 14517 D) 0.75 g.

Glycerol 75 ml.

50°C de Eritilmiş phenol 10 ml.

Distile su 50 ml.

Floresan boyama yöntemi araştırmacıya bir kolaylık getirmiştir. Basil az olduğu zaman, daha kolay görölmeyi sağlar.

## S U M M A R Y

### *BACTERIOLOGY OF MYCOBACTERIUM LEPRAE*

*Mycobacterium leprae* has been found by Hansen in 1873. Until 1960, it has not been studied much on this. Because it is impossible to grow this bacteria on the artificial media and they have only been defined by their morphological characteristics.

Shepard inoculated this bacteria into the mice pads in 1960, and then inoculation on many animals started. It has been found armodillas the best animals, and many problems could be solved out.

In this paper we wanted to review applicable methods to detect of this organism for today.

## K A Y N A K L A R

- 1- Unat, E. K., Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, Dergah Tıp Yayınları. (1982, 361, 384). PK: 1240 Erzurum.
- 2- Vilson, S.G.S., Milles S.A.A. Topley and wilson's principles of Bacteriology and immunity Fifth Ed. Reprinted. 1966. 1654-1659. Butler and Tanner Std. Frome and London.
- 3- Buchanan R. E., Gibbons, N.E. Bergeey's Manual of Determinative Bacteriology Eight Ed. Reprinted, 1975. 700: The Williams and Wilkins Co./Baltimor.
- 4- Jawertz, E. Melinick, j. L., Adelberg, E.A. Review of Medical-microbiyology 12 th. Ed. 1976. 201. Lange Medical publications, Los Altos California. 94022.
- 5- Pattyn, S. R., Bakteriology of *Mycobacterium leprae*, epra Rev 1983. Special issue 175-225. British leprosy Relief Ass.

- 6- Rees, R.j. W., New prospects for the study of leprasy in the laboratory. Bul.. WHO, 40: 785, 1969. kaynak 1 de geçmektedir.
- 7- Kirschheimer, WF, Storrs, E.E. Attempts to establish the armadillo (*Dasyus novemcintus*), as a model for the study of leprosy 1. Report of lepromatoid leprasy in an experimentally infected armadillo *İnt. j. Lepr.* 1971, 39: 693-702 kaynak 5'de geçmektedir.
- 8- Klingmüller, S.S. Uebertragung menschlicher Leprabakterien auf den I gel. *Naturw*, 1977: 64, 645, Kaynak 5'te geçmektedir.
- 9- Frankel, S. Reitman S., Sonnen wirth, A.C. *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis* 7 th. Ed. 1970. 952. The C.V. Mosby Co.
- 10- Kuper, S.W.A. And May, j.R.: *j. Path Bact.* 79: '59, 1960 (kaynak 9'da geçmektedir).