

ÇEŞİTLİ MYCOBACTERİ'LERİN İDANTİFİKASYONU ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR.

Ömer Ertürk (*)

Erdoğan Finci (**)

G i r i Ő

Eskidenberi bilindiği gibi, Mycobacterium bovis ekseriyetle ve Mycobacterium avium cender olmak üzere insanlarda enfeksiyon meydana getirmekte ve bunlar insan tipi tüberküloz mikrobnun meydana getirdiği enfeksiyondan klinik tablo bakımından ayırdedilememektedir. (15). Son yıllarda insanlarda sığır tipi tüberküloz mikrobu ile enfeksiyon vakaları azalmıŐ, buna karşılık kanatlı tipi ile meydana gelen tüberküloz vakaları fazlalaşmıştır. (15).

Çeşitli mycobacteri'lerin grup ayrımlarının yapılabilmesi için çeşitli bir çok testlerden faydalanılarak araştırmalar yapılmıştır. (22). Biz bu araştırmamızda, sayısı çok fazla olan bu testleri imkân nispetinde azaltarak, yurdumuzda insan ve hayvanlarda tüberküloz enfeksiyonuna sebep olan insan, sığır ve kanatlı tipi olmak üzere üç tip tüberküloz etkenini ve soğuk kanlı tüberküloz etkenini birbirilerinden ayırd etmenin mümkün olup olamayacağı üzerinde durduk. AraŐtırmamızın esas gayesi, çeşitli bir çok testlerin yapılması esnasında bu testlerin hepsinin uygulanması için gereken reagens maddelerin her zaman istenildiği anda elde bulunamayıŐı dolayısıyla test sayısını en az bir sayıya dıŐürüp dıŐürülemediđi idi.

Son on yıl içerisinde mycobacteria'nın yeni meydana çıkarılan ve sınıflandırılmamış mycobacteria diye isimlendirilen yeni bir grubu insanlarda sığır ve kanatlı tipi tüberküloz mikroplarına nazaran çok daha fazla olarak enfeksiyon meydana getirmektedir. (15). Bu grup mikroblar muayyen bir organizmaya adapte olmayıp, saha, toprak ve diğer iklim ve evre faktörleri ile bir bağlantı kurarak

* A.Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsü Profesörü, Ankara-Türkiye

** A.Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsü Dr. Asistanı, Ankara-Türkiye.

toprakta bulaşım andemi şeklinde ve çeşitli derece ve tiplerde enfeksiyonlara sebep olurlar. Bu gün için bu grup mikropların insandan insana direkt olarak bulaşımına dair bir bildiri yoktur. Fakat bu tip mikroorganizmalar insanlarda ağır ve hatta öldürücü enfeksiyonlara sebep olmaktadır. 1956 yılında Amerika'da Mayo kliniğinde bu mikroorganizmalardan ileri gelen bir çok vakalar tesbit edilmiş ve enfeksiyonun patogenitesini gösteren klinik ve patolojik bulgular bildirilmiştir. (24). Bu vakalarda mikroorganizmaların bir kaç tipi bulunmuş ve bulunan bu etkenlerin bilinen bütün patogen mycobacterilerden kolaylıkla farkları yapılmış ve ayırd edilmişlerdir. Fakat yeni bulunanların karakteristik özellikleri tesbit edilememiş ve bunlar isimlendirilememişlerdir. Runyon'un ilk çalışmaları (11, 12, 13) nihayet karma karışık bir halde bulunan bu mikroorganizmaları bir sistem halinde toplanılmasına yardım etmiştir. Bu araştırmacı Amerika dahil diğer bir çok memleketlerde bu grup mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen enfeksiyonlardan yüzlerce suş toplamıştır? Bu etkenlerin morfolojik, kültürel, metabolik ve deneme hayvanlarındaki dikkatli incelemeleri sonucunda araştırmacı, bu etkenlerin kültürlerinin ekserisini dört esas grup halinde toplamış ve bu grupları I, II, III, IV olarak isimlendirmiştir. Runyon'un tesbit ettiği bu grupların diagnozu Sovyet Rusya dahil kendi metodunu tatbik eden bir çok memleketlerdeki araştırmacılar tarafından desteklenmiştir. (25). Araştırmalarda 150 suş üzerinde incelemeler yapılmış ve bu suşların hakiki tüberküloz mikroplarının varyantları olduğu sonucuna varılmıştır (13). Amerika'da Mayo kliniğine giren ve aside dayanıklı mikroorganizmalar tarafından kendilerinde enfeksiyon tesbit edilen hastalardan % 5 inde sınıflandırılmamış mycobacteria tiplerinden bazıları tesbit edilmiştir (9). 50 yıldanberi hastalık etkeni olarak tanınan bazı mycobacteriler nekroz, biopsi ve açılmamış apselerde saf halde bulunmuştur.

Bu mikroorganizmalar kobay, tavşan veya kanatlı hayvanlara enjekte edildiklerinde enfeksiyon meydana getirmemekte, toprak ve sudan izole edilen saprofit nevelerden de kültürel ve metabolik testlerle ayırd edilememektedirler. Modern hemoterapötik maddelerin bulunmasından önce, bu mikroorganizmalar tedavi sonucu husule gelen mutant'lar olarak kabul edilmelerine sebep olmuştur. (2, 5, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 26, 27).

Sınıflandırılmamış mycobacteri'lerin klasifikasyonu üzerinde ilk araştırma ve gelişmeler 1954 yılında Timpe ve Runyon (17) tarafından bildirilmiştir. Bu araştırmacılar akciğerlerinde enfeksiyon tespit edilen 120 hastadan yüzlerce izolasyon yaparak incelemelerini

yapmışlardır. Elde ettikleri suşları dört büyük gruba ayırmışlar ve bunları I, II, III, ve IV diye isimlendirmişlerdir. Bundan sonra Runyon ve arkadaşları (11) gerek Amerika ve gerekse diğer memleketlerde izole ettikleri binlerce suş üzerinde araştırmalar yapmışlardır. Bu dört büyük grup aşağıda bildirildiği şekilde isimlendirilmiştir (15).

I inci grup: Photochromogen olanlar. Bunlar genel olarak tüberküloz benzeri hastalık meydana getirirler.

II inci grup: Sarı-Portakal kırmızısı renginde olan Scotochromogen mikroorganizmalardır.

III üncü grup: Nonphotochromogen olanlar.

IV üncü grup: çabuk üreyenler.

Bu gurpların özellikleri hakkında geniş bilgi almak arzu edildiğinde ilgili literatürlere müracaat etmelidirler.

Son yıllarda atipik mycobacteri'lerden ileri gelen akciğer enfeksiyonları ve diğer enfeksiyonlar çok fazlaşmıştır. Bu atipik mikro-organizmaların tüberküloz ve diğer aside dayanıklı bakterilerden ayırd edilmesinin ekseriyetle zor olması dolayısıyla bir çok araştırmacılar bu mikroorganizmaların idantifikasyonuna yardım eden metodlar üzerinde incelemeler yapmaya başlamışlardır. Tarshis ve arkadaşları (16) tarafından ilk yapılan çalışma ile, sıvı halindeki thioglycollate'lı vasatın Mycobacterium tuberculosis, atipik aside dayanıklı bakteriler ve saprofit mycobacteri'lerin gruplarının ayırd edilmesinde faydalı olabileceğini ortaya çıkarmıştır. Elde edilen bu sonuç Koch ve arkadaşlarının (7) yaptıkları incelemelerle de desteklenmiştir.

Yine Tarshis'in (20) yaptığı araştırmalar thioglycollate peroxidase, neutral red, serpentine cord ve niacin testlerinin insan tipi tüberküloz mikrobu, sınıflandırılmamış mycobacteriler ve saprofit aside dayanıklı bakterilerin gruplarının ayırd edilmesinde faydalı olarak kullanılacaklarını meydana çıkarmıştır.

Tarshis ve arkadaşları (21) yaptıkları araştırmalar sonucunda sıvı thioglycollate'lı vasatta hiç bir tüberküloz mikrobunun üremediğini, buna karşılık atipik aside dayanıklı olanların ekserisinin ve bütün saprofit mycobacteri'lerin ürediklerini görmüşlerdir. Atipik suşların 11-39 gün içerisinde yavaş yavaş ve az olarak üredikleri, buna karşılık saprofit olanların karakteristik zar teşkil ederek bir gün içerisinde çabuk ve bol olarak ürediklerini incelemeler esnasında tesbit edilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları denemelerle tüberküloz mikrobu, atipik aside dayanıklı ve saprofit mycobacteri'lerin gruplarının ayırd

edilmesinde sıvı thioglycollate'li vasatın selektif bir vasat olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır. Yine araştırmacılar, daha kesin bir sonuç almak için bu vasat ile birlikte peroxidase, neutral red ve serpentine cord testlerinin beraber kullanılmasını tavsiye etmektedirler. Yine aynı araştırmacılar (22) çeşitli mycobacteri'lerin grup ayrımlarının yapılabilmesi için çeşitli testlerden faydalanma imkânı üzerinde incelemeler yapmışlardır. Bu incelemelerden anlaşıldığına göre, ekseri hallerde peroxidase, nevtral red, serpentine cord ve niacin testleri insan ve sığır tipi tüberküloz mikroplarını kuş tipi, sınıflandırılmamış ve saprofit mycobacteri'lerden ayırd edebilmektedirler. Buna karşılık yalnız peroxidase ve neutral red testleri bazı Battey suşlarını diğer sınıflandırılmamış mikroorganizmalardan, kuş tipi tüberküloz mikrobundan ve saprofit mycobacteri'lerden ayırd edebilmektedir. Bazı ender istisnalar hariç olmak üzere, serpentine cord ve niacin testleri kuş tipi, sınıflandırılmamış ve saprofit mycobacteri'leri birbirlerinden ayırd edememektedirler. Araştırmacılara göre diğer taraftan ekseri hallerde thioglycollate testi insan ve sığır tipi tüberküloz mikroplarını mycobacteri'lerin diğer gruplarından ayırd edebilmektedir. Eğer bu test diğer testlerle birlikte yapılırsa mikroorganizmaların ayırd edilme işi daha da kolaylaşmaktadır. Her ne kadar peroxidase ve neutral red testleri, insan ve sığır tipi tüberküloz mikroplarını Battey suşlarından ayırd etmek için diğer testler kadar faydalı değillerse de, insan ve sığır tipi tüberküloz mikroplarını diğer mucobacterilerden ayırd etmek için diğer testler kadar faydalı olabilecekleri araştırmalar sonucunda meydana çıkarılmıştır. Yine incelemelere göre, bazı Battey mikroorganizmaları peroxidase ve neutral testlerle pozitif sonuç vermelerine rağmen ekseri hallerde bu pozitif reaksiyonlar sığır ve insan tipi tüberküloz mikropları ile elde edilen reaksiyonlara nazaran az şekilde farklıdır. Neutral red testi, serpentine cord testi ile birlikte yapıldığında, bir çok mycobacteri'leri virulansları hakkında karar vermek için yardımcı olabileceği yine incelemeler sonucunda meydana çıkmıştır. Araştırmacılara göre, bu bütün testlerin yapılması kolaydır ve Mycobacterium tuberculosis, sınıflandırılmamış mycobacteri'ler ve saprofit aside dayanıklı mikroorganizmaların grup ayrımları için faydalı oldukları anlaşılmıştır (22).

Materyal ve Metot

Denemelerimizde laboratuvarlarımızda mevcut ve Etlik Bakterioloji Enstitüsünden temin ettiğimiz aşağıda belirtilen 4 human, 2 Bovin ve 2 Avian ve 1 soğuk kanlı tüberküloz suşlarından yararlandık.

Suşlar:

- 4- Psclaire B (soğuk kanlı)
- 12- Human (C) - B
- 11- Human (PN) - B
- 3- Avian - 13
- 2- Bovin (2) - B
- 10- Human (DT) - B
- 1- Human (1) - B
- 2- Bovin - B
- TB Avian (Lab).

Denemelerimizde Thioglycollate, Peroxidase, Neutral Red ve Micro - Niacin testlerini yaptık. Lüzumlu reagens maddeleri temin edemediğimiz için Serpentine cord, testinden yararlanamadık.

Thioglycollate Testi: (16, 19)

Sıvı thioglycollate'lı vasatı ihtiva eden tüplere Löwenstien-Jensen vasatında 7 gün süre ile üretilmiş her suştan ayrı inokule edildi (20). İnokule edilen bu kültür vasatları 8 hafta süre ile 7°C. de inkube edildi. İnkubasyon süresince her gün kültür vasatlarındaki sonuç incelendi. Thioglycollate pozitif olan suşlar vasatta üremelerine karşılık negatif suşlarda üreme görülmedi. Kontrol olarak Thioglycollate pozitif ve negatif bilinen suşlardan istifade edildi.

Peroxidase Testi: (18,1)

Catechol'in % 2 solusyonundan 1 cc ve hydrogen peroxide'in % 1 solusyonundan 0.5 cc ağızları kapakla sıkıca kapanabilen ufak tüplerdeki vasata ilâve edildi ve her suş için ayrı ayrı tüplere kültür vasatlarında üremiş kolonilerden inokule edildi. Bundan sonra tüpler 24 saat süre ile ortalama 20°C deki oda derecesinde bırakıldı. Sonuçlar 10 dakika, 1 saat, 12 saat ve 24 saat sonra incelendi. Peroxidase pozitif suşlar 10 dakika sonunda vasatı kahve rengine, 1 saat sonunda koyu kahve rengine, 24 saat sonra da siyah renge çevirdiler. Negatif suşlarda hiç bir değişiklik görülmedi. Kontrol olarak da peroxidase pozitif ve negatif suşlardan istifade edildi.

Neutral Red Testi. (3, 23, 4)

Her suştan ayrı ayrı ağızları kapakla sıkıca kapanabilen ve içerisinde 5 cc % 50 oranında metanol bulunan ufak tüplere inokule edildi.

Tüpler 1 saat süre ile 37°C. de inkube edildi ve sonra santrifüje edilerek alkol atıldı ve mikroorganizmalar toplandı. Bundan sonra her tüpe 5 cc alkol ilâve edilerek tüpler çalkalandı ve mikroorganizmalar emülsiyon haline getirildi. Bu işlem iki defa tekrarlandı. Her tüpe ayrı ayrı 5 cc alkali-barbitur buffer solusyonundan ve neutral red'in % 0.05 oranındaki slusyonundan 0.2 cc. ilâve edildi. Tüpler çalkalandıktan sonra 37°C de 1 saat bırakıldı. Her on beş dakikada bu tüpler iyice çalkalandı ve inkubasyonun sonunda sonuç okundu. Neutral red pozitif suşlarda mikroorganizmalar pembe veya kırmızı renkte görüldüler. Negatif suşlarda hiç bir değişiklik görülmedi. Virulan, attenuue ve avirulan olarak bilinen suşlar kontrol olarak kullanıldı.

Micro - Niacin Testi: (20,6)

Bu test için önce sulu ekstraktlar şu şekilde hazırlanır (20).

Elde mevcut sıvıya göre, ayrı ayrı kültür vasatına 2-10 damla distile su ilâve edilir. Tüpler ortalama olarak 5 dakika süre ile horizontal bir pozisyona yakın olarak tutulur ve böylelikle sıvı, kültür vasatının sathını kaplıyarak fazla niacin ekstraktı temin edilmiş olur. Bundan sonra her kültür vasatından ayrı ayrı ekstrakt alınarak serolojik tüplere konur. Ekstraktlar 15 dakika süre ile otoklavda sterilize edilir. ve oda derecesinde soğumaya terkedilir. Bundan sonra aşağıdaki gibi Niacin testi uygulanır.

Micro - plate test:

Serolojik tüplerde bulunan her suşa ait ekstrakt'tan 2 damla alınarak beyaz porselen ufak kaplara kondu. Her bir ekstrakta % 95 etanol ile % 4 oranında hazırlanmış anilin'den bir damla ve bir damla da % 10 cyanogen bromide den ilâve edildi ve çalkalama cihazında karıştırıldı. Sonuç beyaz bir sath üzerinde veya gün ışığında, reagens maddeler ekstraktlarla karıştırıldıktan ortalama 5 dakika sonra okundu. Niacin pozitif suşlar çeşitli derecelerde sarı renkte görüldüler. Niacin negatif suşlarda hiç bir değişiklik görülmedi.

Kontrollar:

Reagens kontrolü: Her ekstraktan bir damla ufak bir kaba konarak ortalama 5 dakika kendi haline bırakıldı. Karışımın renksiz olması lâzımdır.

Vasat kontrolü: 2 - 10 damla distile su kültür inokule edilmemiş olan bir tüpteki kültür vasatına ilâve edildi ve aynı şekilde kültür inokule edilmemiş vasat gibi Niacin testine tâbi tutuldu.

Pigmentli suşların kontrolü: Ekstraktla renk verebilen pigmentli suşların şu şekilde kıyaslamaları yapıldı. A) 2 damla ekstrakt, 1 damla anilin reagensi ve bir damla destile su, B) 2 damla ekstrakt, 1 damla cyanogen bromide reagensi ve bir damla su.

Test suşlarının kontrolü: Niacin pozitif, şüpheli ve menfi suşlarda denemeye sokuldu.

Her test iki defa tekrarlandı. Son okumalar ortalama sonuç olarak kabul edildi.

S o n u ç l a r

Thioglycollate testinden elde ettiğimiz sonuçlar 1 No. lu cedvelin incelenmesinden de anlaşılacağı üzere şöyledir: Bu testin inkubasyon süresi sonucunda 3- Avian - 13,2 - Bovin (2) - B, 2 - Bovin - B ve TB avian (Lab) suşlarında bir üreme görülmüş, diğer suşlarda bir üreme görülmemiştir.

Cedvel 1

Thioglycollate Testinde Elde Edilen Sonuçlar

Suş	Sonuç
4- Psclaire B (Soğuk kanlı)	-
12- Human (C) - B	-
11- Human (PN) - B	-
3- Avian - 13	+
2- Bovin (2) - B	+
10- Human (DT) - B	-
1- Human (1) - B	-
2- Bovin - B	+
TB Avian (Lab.)	+

2 No. lu cedvelin incelenmesinden de anlaşılacağı üzere Peroxidase testinden şu sonuçlar elde edilmiştir: 4- Psclaire B (Soğuk kanlı), 3- Avian - 13, 2- Bovin (2) - B, 2 - Bovin B, TB Avian (Lab.) suşları bu test ile pozitif sonuç vermişler, diğer suşlar ise negatif sonuç vermişlerdir.

Cedvel 2

Peroxidase testinde elde edilen sonuçlar

Suş	Sonuç
4- Psclair B (soğuk kanlı)	+
12- Human (C) - B	-
11- Human (PN) - B	-
3- Avian - 13	+
2- Bovin (2) - B	+
10- Human (1) - B	-
1- Human (1) - B	-
2- Bovin - B	+
TB Avian (Lab.)	+

3 No. lu cedvelin incelenmesinden de anlaşılacağı üzere Neutral Red testinden şu sonuçlar elde edilmiştir: 12- Human (C)-B, 11-Human (PN)-B, 1-Human (1)- B, 10-Human (DT)-B suşları bu test ile pozitif diğer suşlar ise negatif sonuç vermişlerdir.

Cedvel 3

Neutral Red Testinde Elde edilen sonuçlar

Suş	Sonuç
4- Psclair B (Soğuk kanlı)	-
12- Human (C) - B	+
11- Human (PN) -	+
3- Avian - 13	-
2- Avian - 13	-
2- Bovin (2) - B	-
10- Human (DT) - B	+
1- Human (1) - B	+
2- Bovin - B	-
TB Avian (Lab.)	-

4 No. lu cedvelin incelenmesinden de anlaşılacağı üzere, Micro-Niacin testinden şu sonuçlar elde edilmiştir: 4- Psclair B (soğuk kanlı), 12- Human (c) - B, 11- Human (PN) - B, 10 - Human (DT) -B suşları bu test ile pozitif, diğer suşlar ise negatif sonuç vermişlerdir.

Cedvel 4

Micro - Niacin testleinde elde edilen sonuçlar

Suş	Sonuç
4- Psclaire B (soğuk kanlı)	+
12- Human (C) - B	+
11- Human (PN) - B	+
3- Avian - 13	-
2- Bovin (2) - B	-
10- Human (DT) - B	+
1- Human (1) - B	-
2- Bovin - B	-
TB Avian (Lab.)	-

T a r t ı Ő m a

Literatürlerin incelenmesinden anlaşılacağı üzere, bu güne kadar çeşitli mycobacterilerin grup ayrımlarının yapılabilmesi için çeşitli bir çok testlerden faydalanılarak araştırmalar yapılmıştır (22). Biz de bu araştırmamızda sayısı çok fazla olan bu testleri imkân nispetinde azaltarak yurdumuzda insan ve hayvanlarda tüberküloz enfeksiyonuna sebep olan insan, sığır, kanatlı ve soğuk kanlı tüberküloz tiplerini birbirlerinden ayırd etmenin mümkün olup olama yacağı üzerinde durduk. Çalışmamızın başında da belirttiğimiz gibi, araştırmamızın esas gayesi, çeşitli bir çok testlerin yapılması esnasında bu testlerin hepsinin uygulanması için gereken reagens maddelerin her zaman istenildiği anda elde bulunmayışı dolayısıyla test sayısının en az bir sayıya düşürülüp düşürülemediği idi.

Son yıllarda insanlarda atipik mycobacteri'lerden ileri gelen akciğer enfeksiyonları ve diğer enfeksiyonlar çok fazlalaşmıştır. Bu atipik mikroorganizmaların tüberküloz ve diğer aside dayanıklı bakterilerden ayırd edilmesinin ekseriyetle zor olması dolayısıyla bir çok araştırmacılar tarafından bu mikroorganizmaların idantifikasyonuna yardım eden metodlar üzerinde incelemeler yapılmaya başlanmıştır. (16).

Tarshis (20) yaptığı araştırmalar sonucunda, thioglycollate, peroxidase, neutral red, serpentine cord ve niacin testlerinin insan tipi tüberküloz mikrobu. sınıflandırılmamış mycobacteriler ve saprofit aside dayanıklı bakterilerin gruplarının ayırd edilmesinde kullanılabileceğini görmüştür. Buna karşılık biz de yaptığımız dört test ile bilhassa bu testler beraber yapıldığı taktirde insan, sığır, kanatlı

ve soğuk kanlı tüberküloz tiplerinin birbirlerinden gayet kolaylıkla ayrılabilceği sonucuna vardık. Çünkü Neutral red ve micro-niacin testlerinde yalnız insan ve soğuk kanlı tipleri pozitif sonuç vermiş diğer suşlar vermemiştir. Buna karşılık Thioglycollate ve Peroxidase testlerinde sığır ve kanatlı tipi ve yalnız birinde soğuk kanlı tip pozitif sonuç vermesine karşılık human tipi pozitif sonuç vermemiştir. Bu sonuçlara göre, biz daha az sayıda tesden yararlandığımız halde kesin sonuçlar elde edebilmekte ve insan, sığır, kanatlı ve soğuk kanlı tüberküloz tiplerini birbirinden ayırd etmekteyiz. Buna karşılık, Tarshis ve arkadaşının (21) elde ettikleri sonuçlarla bizim elde ettiğimiz sonuçlar birbirini tutmamaktadır. Bu araştırmacılar thioglycollate'lı vasatta hiç bir tüberküloz mikrobonu üretmedikleri halde biz aynı vasatta kanatlı ve sığır tipi tüberküloz mikroplarının ürediğini tesbit ettik. Bu değişik sonuçlarda başka diğer faktörlerle birlikte vasatın hazırlanışında kullanılan reagenlerle beraber vasata inoküle edilen suşlardaki özelliklerin tesiri olabileceği düşünülebilir. Buna karşılık aynı araştırmacılar (22) ile bizim sonuçlarımız arasında bir yakınlık bulunmaktadır. Bu sonuçlara göre peroxidase, neutral red ve niacin testleri insan ve sığır tipi tüberküloz mikroplarını kuş tipi, sınıflandırılmamış ve saprofit mycobacterilerden ayırd edebilmektedir. Biz de insan, sığır, kanatlı ve soğuk kanlı tüberküloz tiplerinin birbirinden ayırd edilebileceği sonucuna vardık. Kanaatımıza göre bizim çalışmamızın orijinal yönü, daha az sayıda test kullanmak suretiyle sonuca gidebilmemizdir.

Ö z e t

1) Çeşitli Mycobacterilerin birbirlerinden ayırd edebilmeleri için çeşitli bir çok testlerden faydalanılarak bu güne kadar bir çok araştırmalar yapılmıştır.

2) Bu araştırmamızda sayısı çok fazla olan bu testleri imkân nispetinde azaltarak, yurdumuzda insan ve hayvanlarda tüberküloz enfeksiyonuna sebep olan insan, sığır ve kanatlı ve soğuk kanlı tüberküloz etkenlerini birbirinden ayırd etmenin mümkün olup olamayacağı üzerinde duruldu.

3) Bu maksat için çalışmada Thioglycollate, peroxidase, Neutral red ve Micro - Niacin testlerinden faydalanıldı ve, aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

4) Thioglycollate testinin inkubasyon süresi sonucunda 3-Avian - 13, 2-Bovin (2) - B, 2-Bovin -B ve TB avian (Lab.) suşla-

rında bir üreme görülmüş, denemede kullanılan diğer suşlarda bir üreme görülmemiştir.

5) Peroxidase testi sonucunda, 4- Psclaire B (Soğuk kanlı), 3-Avian- 13,2-Bovin (2), B, 2- Bovin-B, TB Avian (lab) suşları bu test ile pozitif sonuç vermişler, denemede kullanılan diğer suşlar ise negatif sonuç vermişlerdir.

6) Neutral Red testi sonucunda 12- Human (c) - B, 11 -Human (PN)-B, 1-Human (1) - B, 10-Human (DT) -B suşları bu test ile pozitif sonuç vermişler, denemede kullanılan diğer suşlar negatif sonuç vermişlerdir.

7) Micro - Niacin testi sonucunda 4 - Psclaire B (Soğuk kanlı), 12 - Human (c) - B 11- Human (PN) - B, 10-Human (DT) -B suşları bu test ile pozitif sonuç vermişler, denemede kullanılan diğer suşlar ise negatif sonuç vermişlerdir.

8) Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, Neutral Red ve Micro Niacin testlerinde yalnız insan ve soğuk kanlı tüberküloz tipleri pozitif sonuç vermiş diğer suşlar vermemiştir. Buna karşılık Thioglycollate ve Peroxidase testlerinde sığır ve kanatlı tipi ve yalnız bu testlerden birisinde soğuk kanlı tip pozitif sonuç vermesine karşılık Human tipi bu testlerle pozitif sonuç vermemiştir.

9) Çalışmalarımız sonucunda, bu testler beraber yapıldığı takdirde insan, sığır, kanatlı ve soğuk kanlı tüberküloz tiplerinin birbirlerinden gayet kolaylıkla ayrılabilceği sonucuna varılarak, çalışmanın esas gayesi olan daha az sayıda testten faydalanılarak kesin sonuçlar elde edilmiştir.

S u m m a r y

Investion on the Identification of Various Mycobacteria

1) The many investigations were undertaken till today to evaluate further the usefulness of several of these tests for group differentiation of various mycobacteria.

2) In our investigation, we performed some tests to differentiate various mycobacteria such as human, bovine, avian and the tubercle bacilli of coldblooded animals which are the cause of tuberculoze infections in human and animals in our country. Also, we tried to reduce these tests and whether it is possible or not to obtaine same results with these reduced tests.

3) For this purpose, we used in our investigation thioglycollate, peroxidase, neutral red and micro - niacin tests and obtained these results as follow:

4) Thioglycollate test: The results were read daily during the entire period of incubation. The strains of 3 - Avian 13, 2 Bovin (2) -B, 2- Bovin-B and avian (Lab.) grow in the media whereas the other strains do not.

5) Peroxidase Test: The results were read after 10 minutes, and again after 1, 12, and 24 hours, respectively. The strains of 4 - Psclaire B (Cold - blooded), 3- Avian - 13, 2 - Bovin (2) - B, - 2 - Bovin -B, TB Avian (Lab) turn brown within 10 minutes, darken, and become black within 1 to 24 hours. The other strains remain unchanged.

6) Neutral Red Cytochemical Test: the tubes were shaken thoroughly every 15 minutes and the results were read after the period of incubation. The strains of 12 - Human (C) - B, 11 - (PN)- B, 1 - Human (1) - B, 10- Human (DT) -B exhibit varying degrees of pink or red staining of the organisms. The other strains remain unchanged.

7) Micro - Test. The result were read approximately 5 minutes after the reagents mixed with the extracts by means of a reflected white or daylight source. Water extracts of 4 - Psclaire - B (Cold blooded), 12 - Human (C) - B, 11S Human (PN) - B, 10 - Human (DT) - B strains exhibit varying degrees of yellow coloration. The other strains remain unchanged.

8) According to results we obtained in our investigation in Neutral red and Micro - Niacin tests Human and cold blooded Mycobacterium tuberculosis microorganism gave positive results only the other strains do not. Whereas Bovin avian Mycobacterium tuberculosis microorganism gave positiv results in Thioglycollate and Peroxidase test. In one test from these tests, cold blooded microorganisms gave positive result, but Human Mycobacterium tuberculosis microorganisms do not.

9) With this invstigation, we obtained this result that if these tests Could be performed together, Human, bovine, Avian and cold blooded Mycobacterium tuberculosis microorganisms could be differentiated very easily and it has been optained definite results using reduced tests which is the main purpose of our investigation.

L i t e r a t ü r

- 1 - **Bogen, E.:** (1957), Am. Rev. Tuberc. 76: 1110.
 2 - **Crow, H. E., and others:** (1957) Am. Rev. Tuberc. 75: 199.

- 3 - **Dubos, R.j., and Middlebrook, G.:** (1958), Am. Rev. Tuberc. 58: 5 698.
- 4 - **Hughes, D.E., Moss, E.S., Hood, M., and Henson, M.:** (1954), Am, J. Clin. Parth 24: 621.
- 5 - **Hauduroy, P.:** (1955), *Derniers Aspects du Monde des Mycobacteries*, Paris, France ,Masson and cit.
- 6 - **Konno, K.:** (1956), *New chemical method to differentiate Human tupe tuberele bacili* from other bacteria. Science, 124: 985.
- 7 - **Koch, M.L. Griffn, V.L., and Agostini, E.E.:** (1957), Am. Rev. Tuberc. 77: 356-358.
- 8 - **Laporte, R.:** (1940), Ann. Institut Pasteur, 65: 282.
- 9 - **Merckx, j.j., and others.:** (1963), Proc. Staff Meet. Mayo Clinic., 38: 271.
- 11 - **Runyon, E.H., and others.:** (1959), Am. Rev. Tuberc., 79: 663.
- 12 - **Runyon, E.H.:** (1959), Bull. Internat. Union Egainst Tuberc., 29: 69.
- 13 - **Runyon, E.H.:** (1959), Med. Clinies of North American., 43: 273.
- 14 - **Symposium on World Wide Distribution of Atypical Acid - fast Bacili** (1959) Bull. Internat. Union Against Tuberc., 29: 295.
- 15 - **Smith, Conant, and Overman:** (1964), *Zinsser Microbiology*, 13 th. Edition P. 538, Appleton Centry Crossts.
- 16 - **Tarshis, M.S., and Frisch, A.W.:** (1952), Am Rev. Tuberc. 65: 278-288.
- 17 - **Timpe, A., and Rumyon, E.H.:** (1954), J. Lab. Clin. Med., 44: 202.
- 18 - **Tirunarayanan, M.O., and Vischer, W.A.:** (1957), Am. Rev. Tuberc. 75-62.
- 19 - **Tarshis, M.S.:** (1960), Dis. Chest. 38: 413
- 20 - **Tarshis, M.S.:** (1960) Am. Rev. Respr. Dis. 82: 236
- 21 - **Tarshis, M.S., Lax Alexandria.:** (1961) ,J. of Lab. and Clinic. Med. 54: 4, 630.
- 22 - **Tarshis, M.S., la Alexandria.:** (1961), J. of Lab. Clinic. Med. 57: 3,480.

- 23 - **Wayne, L.G.:** (1956), Am Rev. Tuberc. 73: 600.
- 24 - **Weed, L. A. and others** (1956), Proc. Staff Meed. Mayo Clinic., 31: 238, 246, 259,
- 25 - **Wolinsky, E.** (1960), *Anonymous Mycobacteria in Human Disease*, ed. T.S.Chapman, Springfield, III., Charles c. Thomas. P 45.
- 26 - **Youmans, G.P.:** (1958), Internat. Union Against Tubec., 28: 128.
- 27 - **Youmans G.P.:** (1963), Ann. Rev. Microbiol., 17: 473

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 3.7.1966 günü gelmiştir.