



YAYMA TEKNİKLERİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ (FLOROKROM BOYAMA)

Dr. Vildan AVKAN OĞUZ
İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD.

Eylül 2009, Erzurum



YENİ YAKLAŞIMLAR

- Balgam konsantrasyon yöntemleri
- Floresan mikroskopun kullanımı
- İki balgam örneğinin işlenmesi



FLORESAN BOYALAR

- Fluorescein isothiocyanate
(FITC, fluorescein 490 nm)
- Tetramethylrhodamine isothionate
(TMRI, 555 nm, FITC'den daha labil)

en sık
kullanılan
boyalar

FLORESAN BOYALAR

- Auramine O-Rhodamine B → ARB --- sarı
- Acridine orange → DNA --- yeşil
RNA --- kırmızı
- Phosphine 3R → Lipid --- gri beyaz
- Thioflavin T → Amiloid-- sarı

FLOROKROM BOYAMA YÖNTEMLERİ

- Auramine - Fenol boyama
- Glikerson ve Kanner'in floresanlı boyama
- Auramine - Rhodamine ile boyama
- Auramine – Acridine orange boyama

AURAMİNE-RHODAMİNE İLE BOYAMA YÖNTEMİ

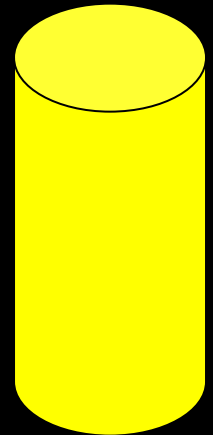
- Gliserol ----- 75 ml
- Auromine O ----- 1,5 gr
- Rhodamine B-----0.75 gr
- Sıvı fenol ----- 10 ml
(Isıtılmış fenol 10 ml +dH₂O 50ml)
- Saf su -----50 ml

4

3

2

1



- Auramine– Rhodamine Fluorescent Stain
(Ticari hazır boya)

AURAMİNE-RHODAMİNE İLE BOYAMA YÖNTEMİ

ASİT ALKOL HAZIRLANMASI

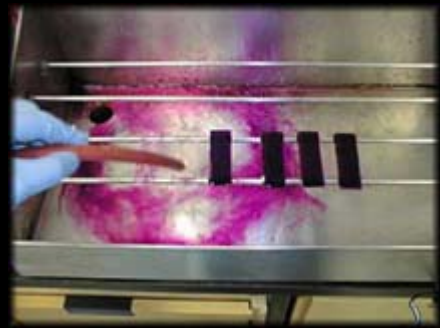
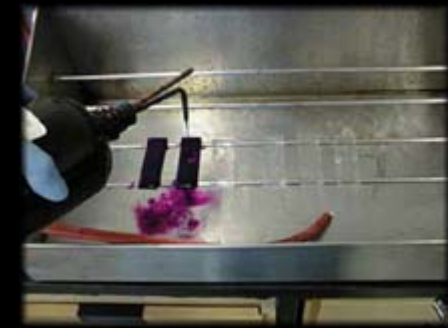
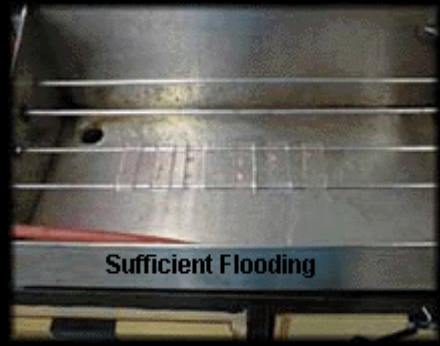
- Etil alkol (% 70'lik) ----- 99.5 ml
- Konsantre HCl ----- 0.5 ml

KARŞIT BOYA ÇÖZELTİSİ HAZIRLANMASI

- Potasyum permanganat (KMnO_4) --- 0.5 gr
- Distile su ----- 100 ml

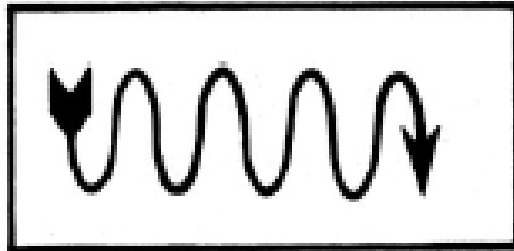
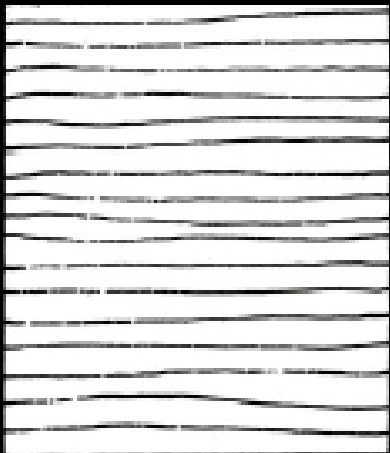
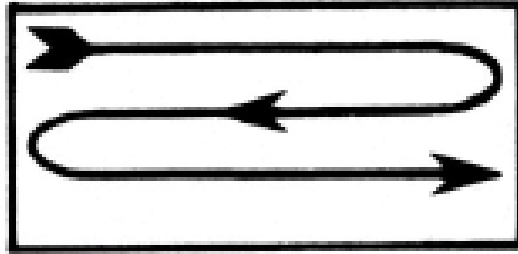
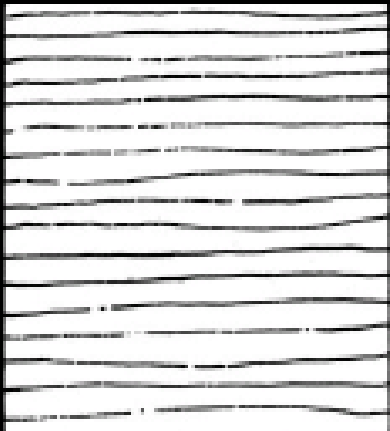
AURAMİNE-RHODAMİNE İLE BOYAMA

- Boyalar mutlaka iyice çalkalanmalı
- AR boyası → 15-20 dk (oda ısısında)
- Steril distile su ile yıkama
- % 0.5 asit alkol → 2-3 dk
- Steril distile su ile yıkama
- KMnO_4 → 2 dk
- Steril distile su ile yıkama



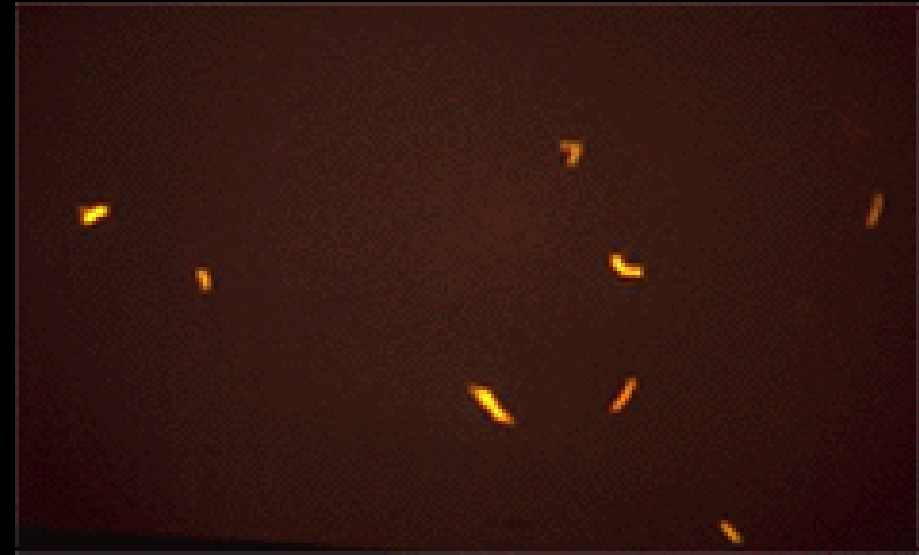
ÖNERİLEN FİLTRE SETLERİ

Manufacturer	Filter Set	Excitation (nm)	Emission (nm)	Fluorochrome Stain(s) ^b
Lecia	13	450-490	>515	AO*, AR*, FITC*
	H3	420-490	>515	AO, AR, FITC
	L4	450-490	515-560	FITC
	D	355-425	>470	CW*
Nikon	B-2A ^c	450-490	>520	AO*, AR*
	B-2H	450-490	>515	AO
	B-3A	420-490	>520	CW
	BV-2A	405-445	>475	CW*
	UV-2B	380-425	>460	CW
	B-1E	470-490	520-560	FITC
	B-1A	470-490	>520	FITC*
Olympus	B	450-490	>515	AO, AR*, FITC
	IB	460-490	>515	AO*, FITC*
	UV	330-385	>420	CW*
Carl Zeiss	01	359-371	>400	CW
	02	330-390	>420	CW
	05	400-440	>475	CW*
	09	450-490	>520	AO*, AR*, FITC*
	10	450-490	520-560	AO, AR, FITC



AURAMİNE-RHODAMİNE İLE BOYAMA

- 25 x - 40 x büyütme ile inceleme
- Pozitif ve negatif kontrol kullanılmalı
- Pozitif → sarı, turuncu, kırmızı, parlak, ince kıvrık, içi tanecikli bakteriler



EZN ya da Kinyoun ile KONTROL

AURAMİNE-RHODAMİNE BOYAMA İLE SONUÇ BİLDİRİMİ

	<u>Florokrom boya</u>	
	250 X	450 X
Negatif	0	0
Şüpheli, tekrar	1-2/30 alan	1-2/70 alan
1+	1-9/10 alan	2-18/50 alan
2+	1-9/1 alan	4-36/10 alan
3+	10-90/1 alan	4-36/1 alan
4+	>90/1 alan	>36/1 alan

AURAMİNE-RHODAMİNE İLE BOYAMA

- Florokrom boyama (+) Kültür % 87 (+)
 - ✓ Duyarlılık % 72
 - ✓ Özgüllük % 94

Uribe-Botero G ve ark. *Am J Clin Pathol* 1989; 91: 313 – 5

- Auramine-rhodamine boyama :
Auramin, EZN ve Kinyoun boyadan daha duyarlı

Somoskövi A ve ark. *Chest* 2001; 120: 250 – 57

Sonuç

- İşlemlenen balgam örneği sayısı / gün ↑
- Duyarlılığı yüksek tarama yöntemi
- Aside dirençli boyama ile kontrol



Dođru ve erken tanı ?

Tüberküloz ?