

Mikobakteri Enfeksiyonu Şüpheli Hastaların Solunum Yolu Örneklerinin Direkt Mikroskopik İncelenmesinde Manuel (TB Fluorescent Stain Kit) ve Otomatize (RAL Stainer) Floresan Boyama Yöntemlerinin Karşılaştırılması[†]

Comparison of Manual (TB Fluorescent Stain Kit) and Automated (RAL Stainer) Fluorescent Staining Methods for Direct Microscopic Examination of Respiratory Tract Samples of Patients with Suspected Mycobacterial Infection

Cengiz Çavuşoğlu*[Ⓜ], Ayşe Arslan**[Ⓜ]

*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

**Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya

Öz

Amaç: Tüberküloz yüksek morbidite ve mortaliteye neden olması nedeniyle hızlı tanı ve tedavi gerektiren bir hastalıktır. Mycobacterium tuberculosis tanısında mikroskopik inceleme önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmada, otomatize bir mikobakteri boyama sisteminin iki farklı protokolünün manuel floresan boyama yöntemi ile performans ve boyamanın kalitesi yönünden karşılaştırılması ve otomatize boyama sisteminin çapraz kontaminasyon olmadan kullanılabileceğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Yapılan çalışmada, bir üniversite hastanesi laboratuvarına rutin inceleme için gönderilen asidorezistan boyama (ARB) pozitif 100 solunum örneği değerlendirildi. Klinik örnekler dekontamine edildikten sonra her klinik örnekten toplam üç adet yayma hazırlandı. Yaymalardan birincisi manuel floresan boyama ile ikincisi otomatize boyama sisteminin konvansiyonel protokolüne göre ve üçüncüsü de kısa protokole göre boyandı. Yaymalar floresan mikroskopta artefaktın varlığı, renklerin parlaklığı ve değerlendirmenin kolaylığı açısından değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmada değerlendirilen tüm pozitif kontroller pozitif, tüm negatif kontroller ise negatif olarak saptandı ve otomatize boyama sisteminde hiçbir örnekte çapraz kontaminasyon saptanmadı. Manuel floresan boyama sistemi ile elde edilen sonuçlar ile otomatize boyama sisteminin konvansiyonel ve kısa protokolleri ile yapılan boyama sonuçları arasında sırasıyla yayma değerlendirmesinde %84 ve %82, artefakt varlığında %92 ve %85, renklerin parlaklığında %86 ve %89, değerlendirilmesinin kolaylığında ise %91 ve %89 uyum saptandı. Otomatize sistemin konvansiyonel ve kısa protokolleri ile manuel sistem arasındaki Cohen'in kappa katsayısı sırasıyla 0.79 ve 0.76 idi ve uyum kusursuz olarak değerlendirildi.

Sonuç: Otomatize boyama sisteminin kapalı bir sistem olduğu için laboratuvardaki kimyasal kontaminasyonu azaltacağı ve günlük uygulamalarda orta veya yüksek sayıda boyama yapılan özelleşmiş laboratuvarlarda iş yükünü azaltmak ve boyama standardizasyonunu arttırmak için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Floresan boyama, mikroskopi, tüberküloz

ABSTRACT

Objective: Tuberculosis has high morbidity and mortality, so it requires rapid diagnosis and treatment. Microscopic examination has an important place in the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infections. The aim of this study is to compare two different protocols of an automated mycobacteria staining system with the manual staining method in terms of performance and quality, and to show that automated system can be used without cross-contamination.

Method: In this study, acidoresistance staining positive (ARS+) 100 pulmonary specimens which were sent to a university hospital laboratory for routine analysis were examined. Clinical samples were decontaminated, then a total of three smears were prepared from these samples. These smears were stained according to manual fluorescence staining protocol, conventional automated staining protocol and short protocol respectively. Smears were examined in terms of the presence of artefacts, the color brightness and the ease of evaluation.

Results: Positive controls evaluated in the study were positive, and negative controls were negative, any cross-contamination was not detected in any sample in the automated staining system. The agreement between the results obtained in the manual staining protocol and the automated staining system (conventional and short protocol) was 84% and 82% for smear grade, 92% and 85% for presence of artefacts, 86% and 89% for brightness of the color, 91% and 89% for the ease of evaluation, respectively. The Cohen's kappa coefficients between the manual protocol, the automated conventional and short protocols were 0.79 and 0.76 that are considered as indicative of excellent agreement, respectively.

Conclusion: The automated staining system can be used because it decreases the chemical contamination, reduces workload in specialized laboratories which perform medium to high numbers of staining in their daily practice and improves standardization of staining methods.

Keywords: Fluorescent dyes, microscopy, tuberculosis

Alındığı tarih:

04.12.2018

Kabul tarihi:

21.05.2019

Yayın tarihi:

30.09.2019

ORCID Kayıtları

C. Çavuşoğlu 0000-0002-8525-7272

A. Arslan 0000-0002-4934-4889

✉ aysa_demir@hotmail.com

[†] Bu makale 24. ECCMID (European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 10-13 Mayıs 2014, Barselona, İspanya) ve XXXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (12-16 Kasım 2014, Belek-Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur.

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

© Copyright Turkish Society of Microbiology. This journal published by Logos Medical Publishing. Licensed by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

GİRİŞ

Mycobacterium tuberculosis'in neden olduğu akciğer ve akciğer dışı tüberküloz dünyada en çok ölüme yol açan enfeksiyon hastalıklarından biridir. Dünya genelinde 2017'de yaklaşık 10 milyon yeni tüberküloz olgusunun olduğu ve yaklaşık 1.3 milyon kişinin tüberküloz nedeniyle yaşamını kaybettiği bildirilmiştir⁽¹⁾. Tüberküloz tanısında dünya genelinde en fazla kullanılan yöntem balgam örneğinden hazırlanan yaymanın mikroskopik incelenmesidir. Birçok laboratuvar da mikroskopik tanı amacıyla yaygın olarak Ziehl-Neelsen ile boyanmış preparatların konvansiyonel ışık mikroskopuyla incelenmesi kullanılmaktadır. Bu yöntemin duyarlılığı tüberküloz prevalansının yüksek olduğu bölgelerde yüksek olmasına karşın, büyük değişkenlikler (%20-%80) gösterebilmektedir ve HIV ile enfekte hastalarda geçerliliği oldukça düşüktür⁽²⁾. Diğer bir mikroskopik inceleme yöntemi olan floresan mikroskopisinin Ziehl-Neelsen mikroskopisine göre %10 daha duyarlı olduğu ve değerlendirme süresinin %25 daha kısa olduğu bildirilmektedir⁽³⁾. İleri inceleme yöntemlerinin olmadığı merkezlerde kültür sonucunu beklemek tedaviyi geciktireceği için direkt mikroskopik inceleme önemli bir yer tutmaktadır. Tedavi almayan tüberküloz hastalarında mortalitenin yüksek olduğu, doğal seyrindeki yayma pozitif tedavisiz akciğer tüberkülozu olgularının 10 yıl içinde %70'inin yaşamını kaybettiği bildirilmiştir⁽⁴⁾. Bu nedenle direkt mikroskopik incelemenin görüntü kalitesinin artırılması, daha kısa sürede sonuçlanması için yeni boyama seçeneklerine gereksinim vardır.

Otomatize RAL [Fluo-RAL (bioMérieux-Fransa)] boyama sistemi 20 adede kadar lamın aynı anda boyanabildiği tamamen kapalı bir sistemdir. Manuel boyamadan farklı olarak Auramine-Rhodamine yerine Auramine-Thiazine Kırmızısı boya kullanılır. Konvansiyonel ve kısa protokoller fiksatif solüsyon ve boya solüsyonlarında muamele süreleri açısından farklılık gösterir. Laboratuvarın gereksinimi ve isteği doğrultusunda dokuz adede kadar farklı protokol oluşturulabilir⁽⁵⁾.

Bu çalışmada, otomatize bir mikobakteri boyama sistemi olan RAL boyama sisteminin konvansiyonel ve kısa protokolünün manuel floresan boyama yöntemi ile performans ve boyamanın kalitesi yönünden karşılaştırılması ve RAL sisteminin çapraz kontaminasyon olmadan kullanılabilirliğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Klinik örnekler: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'na rutin inceleme için gönderilen örneklerden ARB pozitif olanlar seçildi, daha sonra çalışılması için örneklerden bir miktar ayrıldı. ARB pozitif olduğu bilinen 100 solunum örneği [80 balgam ve 20 balgam dışı solunum örneği (bronkoalveolar lavaj, bronkoskopik aspirasyon, postbronkoskopik balgam ve derin trakeal aspirat)] çalışmaya dâhil edildi. Çapraz kontaminasyonu değerlendirmek için her çalışmada pozitif ve negatif kontroller kullanıldı. Bu kontroller arşivimizdeki kültür sonuçlarına göre; 10 yayma-kültür negatif ve 10 yayma-kültür pozitif örnek olarak seçildi. Her boyamada bir pozitif kontrol ve bir de negatif kontrol preparat hazırlandı.

Boyama yöntemi: Klinik örnekler N-Acetyl-L-Cysteine – NaOH yöntemiyle dekontamine edildikten sonra her klinik örnekten lam üzerinde 2 cm² alanı dolduracak şekilde toplam üç adet yayma hazırlandı. Yaymalardan birincisi manuel floresan boyama (BD TB Fluorescent Stain Kit T) ile ikincisi RAL sisteminde konvansiyonel protokole göre ve üçüncüsü de RAL sisteminde kısa protokole göre boyandı. Karşılaştırma için EZN boyama yapılmadı. Her çalışmada, bir pozitif (H37Rv) ve bir negatif yayma kontrolü kullanıldı⁽⁶⁾.

Manuel floresan boyama: BD TB floresan boyama kiti T, üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanıldı. Özetlenecek olursa; (i) Lamlar boyama askısına kondu ve lamların üstünü örtecek kadar TB Auramine-Rhodamine T boyası döküldü, oda sıcaklığında 25 dakika bekletildi ve distile su ile iyice yıkandı. (ii)

Lamlar TB decolorizer TM ile 2-3 dakika renksizleştirildi ve distile su ile iyice yıkandı. (iii) Lamlar zıt boyama için TB potasyum permanganat ile 4-5 dakika muamele edildi, distile su ile iyice yıkandı ve havada kurumaya bırakıldı.

RAL stainer konvansiyonel protokol: Otomatize RAL boyama sisteminin konvansiyonel protokolü toplam 28 dakika sürdü ve aşağıdaki aşamalardan oluştu: (i) fiksatif solüsyonla 5 dakika muamele, ardından 10 saniye yıkama, (ii) auramine ile 15 dakika muamele ve 1 dakika yıkama, (iii) 1 dakika dekolorizasyon, ardından 10 saniye yıkama, (iv) thiazine kırmızısı ile 5 dakika muamele ve ardından 30 saniye yıkama.

RAL stainer kısa protokol: Otomatize RAL boyama sisteminin kısa protokolü toplam 19 dakika sürdü ve aşağıdaki aşamalardan oluştu: (i) fiksatif solüsyonla 3 dakika muamele, ardından 30 saniye yıkama, (ii) auramine ile 10 dakika muamele ve 30 saniye yıkama, (iii) 2.5 dakika dekolorizasyon, ardından 30 saniye yıkama, (iv) thiazine kırmızısı ile 1 dakika muamele ve ardından 30 saniye yıkama. RAL stainer boyama sistemi ile tek seferde toplamda 20 preparat boyanabildi.

Yaymaların değerlendirilmesi: Yaymalar floresan mikroskopunda 450 büyütmede Kent/Kubica kriterlerine göre kör olarak değerlendirildi⁽⁶⁾. Her yayma artefaktın varlığı, renklerin parlaklığı ve değerlendirmenin kolaylığı açısından değerlendirildi.

Yöntem analizi: İstatiksel analiz yöntemi olarak Cohen'nin Kappa katsayısı SPSS 18.0 programı ile hesaplandı. Cohen'in Kappa değerinin değerlendirilmesinde Landis ve Koch'un tablosu kullanıldı (Tablo 1)⁽⁷⁾. Yöntem karşılaştırılması Cohen's Kappa metodu kullanılarak, pozitif örneklerin karşılaştırılması ve anlamlı fark yorumu da %95 güven aralığı [confidence interval (CI)] kullanılarak yapıldı⁽⁸⁾. Ayrıca p değeri hesaplanmadı.

Tablo 1. Kappa katsayısı değerlendirme tablosu.

Katsayı	Yorum
< 0	Hiç uyuşma olmaması
0.0-0.20	Önemsiz uyuşma olması
0.21-0.40	Orta derecede uyuşma olması
0.41-0.60	Ekseriyetle uyuşma olması
0.61-0.80	Önemli derecede uyuşma olması
0.81-1.00	Neredeyse kusursuz uyuşma olması

BULGULAR

Manuel floresan boyama sisteminin sonuçları ile otomatize RAL boyama sisteminin konvansiyonel protokolünün sonuçları karşılaştırıldığında yayma pozitifliğinin derecelendirmesinde %84 (CI 0.7547-0.9001) uyum saptandı. Kappa katsayısı 0.79 idi ve her iki yöntem arasında önemli derecede uyuşma olduğu görüldü. Manuel floresan boyama sisteminin sonuçları ile otomatize RAL boyama sisteminin konvansiyonel protokolünün sonuçları arasında artefakt varlığı açısından uyum %92 idi. Manuel floresan boyama yöntemiyle boyanan yaymaların üçünde ve otomatize RAL boyama sisteminin konvansiyonel protokolünü kullanarak yapılan yaymaların ise sekizinde artefakt saptandı. Manuel floresan boyama sistemi ile boyanan yaymaların 85'inde ve otomatize RAL boyama sisteminin konvansiyonel protokolü ile boyanan yaymaların 97'sinde renk parlaklığı kusursuz (+++) olarak değerlendirildi. Renk parlaklığı ile ilgili genel uyum %86 (CI 0.7774-0.9160) idi. Otomatize RAL boyama sisteminin konvansiyonel protokolünün sonuçlarına bakıldığında, tüm örneklerdeki renk parlaklığının iyi olmasına karşın manuel floresan boyama ile boyanan 100 örneğin dördünde renk parlaklığının az olduğu (+1) görüldü. Manuel floresan boyama sistemi ile boyanan yaymaların 95'inde ve otomatize RAL boyama sisteminin konvansiyonel protokolü ile boyanan yaymaların ise 96'sında değerlendirme kolaylığı kusursuzdu (+++). Değerlendirme kolaylığı ile ilgili genel uyum %91 (CI 8358-0.9538) idi. Her iki boyama yöntemi arasında değerlendirme kolaylığı açısından anlamlı bir fark yoktu. Manuel floresan boyama ve otomatize RAL boyama sisteminin konvansiyonel protokolünün

sonuçları Tablo 2’de özetlenmiştir.

Manuel floresan boyama sisteminin sonuçları ile otomatize RAL boyama sisteminin kısa protokolünün sonuçları arasında yayma pozitifliğinin derecelendirilmesinde %82 (CI 0.7324-0.8839) uyum saptandı. Kappa katsayısı 0.76 idi ve her iki yöntem arasında önemli derecede uyuşma olduğu görüldü. Manuel floresan boyama sistemi ile boyanan yaymaların üç tanesinde, otomatize RAL boyama sisteminin kısa protokolü ile boyanan yaymaların 16 tanesinde artefakt vardı. Toplamda sonuçlar arasında artefakt varlığı açısından uyum %85 (CI 0.7660-0.9081) idi. Manuel floresan boyama sistemi ile boyanan yaymaların 85’inde ve otomatize RAL boyama sisteminin kısa protokolü ile boyanan yaymaların 96’sında renk par-

laklığı kusursuzdu (+++). Toplamda renk parlaklığı açısından uyum %89 (CI 8121-0.9391) idi. Manuel floresan boyama protokolündeki 100 örnekten dört tanesinde renk parlaklığında azalma (+1) varken, otomatize RAL boyama sisteminin kısa protokolündeki tüm örneklerde renk parlaklığı iyiydi. Manuel floresan boyama sistemi ile boyanan yaymaların 95’inde ve otomatize RAL boyama sisteminin kısa protokolü ile boyanan yaymaların 94’ünde değerlendirme kolaylığı kusursuzdu (+++). Toplamda değerlendirme kolaylığı açısından uyum %89 (CI 8121-0.9391) idi. Her iki yöntem arasında değerlendirme kolaylığı açısından anlamlı fark yoktu. Manuel floresan boyama protokolü ve otomatize RAL boyama sisteminin kısa protokolünün sonuçları Tablo 3’te özetlenmiştir.

Tablo 2. Manuel Floresan Boyama protokolü ile RAL boyama sistemi konvansiyonel protokolü sonuçlarının karşılaştırılması.

	Boyama yöntemi			
	Manuel protokol		Konvansiyonel protokol	
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Yayma derecelendirmesi				
1+	38	28	44	28
2+	30	21	27	23
3+	17	16	15	15
4+	15	15	14	14
Toplam	100	80	100	80
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Artefakt varlığı				
Yok	97	78	92	74
Var	3	2	8	6
Toplam	100	80	100	80
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Renk parlaklığı				
+	4	4	0	0
++	11	11	3	3
+++	85	65	97	77
Toplam	100	80	100	80
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Değerlendirme kolaylığı				
+	3	3	1	0
++	2	2	3	2
+++	95	75	96	78
Toplam	100	80	100	80

Tablo 3. Manuel Floresan boyama protokolü ile RAL boyama sistemi kısa protokolü sonuçlarının karşılaştırılması.

	Boyama yöntemi			
	Manuel protokol		Kısa protokol	
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Yayma derecelendirmesi				
1+	38	28	47	32
2+	30	21	22	18
3+	17	16	17	16
4+	15	15	14	14
Toplam	100	80	100	80
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Artefakt varlığı				
Yok	97	78	84	68
Var	3	2	16	12
Toplam	100	80	100	80
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Renk parlaklığı				
+	4	4	0	0
++	11	11	4	4
+++	85	65	96	76
Toplam	100	80	100	80
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Değerlendirme kolaylığı				
+	3	3	1	0
++	2	2	5	4
+++	95	75	94	76
Toplam	100	80	100	80

Otomatize RAL boyama sisteminin kısa protokolü ve konvansiyonel protokolünün sonuçları arasında, yayma pozitifliğinin derecelendirmesinde %87 (CI 0.7888-0.9238), artefakt varlığında %88 (CI 0.8004-0.9315), renk parlaklığında %97 (CI 0.9117-0.9935), değerlendirme kolaylığında ise %98 (CI 0.9256-0.9989) uyum vardı. Her iki yöntem arasında yayma değerlendirme, renk parlaklığı, değerlendirme kolaylığı açısından anlamlı fark saptanmadı. Buna karşın, kısa protokolde 100 örneğin 16'sında, konvansiyonel protokolde ise 100 örneğin sekizinde artefakt saptandı (Tablo 4).

Manuel boyama sistemi protokolü yaklaşık 35-40 dakika, otomatize RAL boyama sisteminin konvansi-

yonel protokolü 28 dakika ve kısa protokolü de 19 dakika sürdü. Her çalışmada çapraz kontaminasyonu değerlendirilmek için kullanılan tüm pozitif kontroller pozitif, tüm negatif kontroller ise negatif olarak saptandı ve sonuç olarak otomatize boyama sisteminde ve manuel boyama sisteminde hiçbir örnekte çapraz kontaminasyon saptanmadı.

TARTIŞMA

Tüberküloz tanısında mikroskopi hızlı sonuç veren, düşük maliyetli ve tüberküloz dışı mikobakteri enfeksiyonlarının prevalansının düşük olduğu koşullarda özgül bir yöntemdir. Buna karşın uygun şekilde boyanmaya, eğitilmiş personele gereksinim göster-

Tablo 4. RAL boyama sistemi kısa protokolü ile konvansiyonel protokolünün sonuçlarının karşılaştırılması.

	Boyama yöntemi			
	Manuel protokol		Konvansiyonel protokol	
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Yayma derecelendirmesi				
1+	47	32	44	28
2+	22	18	27	23
3+	17	16	15	15
4+	14	14	14	14
Toplam	100	80	100	80
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Artefakt varlığı				
Yok	84	68	92	74
Var	16	12	8	6
Toplam	100	80	100	80
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Renk parlaklığı				
+	0	0	0	0
++	4	4	3	3
+++	96	76	97	77
Toplam	100	80	100	80
	Tüm örnekler	Balgam	Tüm örnekler	Balgam
Değerlendirme kolaylığı				
+	1	0	1	0
++	5	4	3	2
+++	94	76	96	78
Toplam	100	80	100	80

mektedir. Ayrıca tek bir yaymanın mikroskopik incelenmesi ile elde edilen pozitiflik oranı %22 ve %43 oranında değişmektedir. Bu nedenle mikroskop ve boyama kalitesi geliştirilerek yapılan mikroskopik bakının duyarlılığının artırılması, tüberküloz kontrolünde önemli bir adım olacaktır⁽¹⁰⁾. Sunulan çalışma otomatize RAL [Fluo-RAL (bioMérieux-Fransa)] boyama sisteminin manuel floresan boyama yöntemi (BD TB Fluorescent Stain Kit T) ile performans ve boyamanın kalitesi yönünden karşılaştırılmasını ve aralarındaki uyumu değerlendirmeyi amaçlayan bir kalite ve zaman çalışması olarak planlanmıştır.

Çalışmanın sonucunda, yayma derecelendirmesi açısından bakıldığında, RAL boyama sisteminin perfor-

mansının manuel boyamaya eşit olduğu görülmüştür. Değerlendirme kolaylığı açısından her iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamasına karşın, renk parlaklığı açısından RAL boyama sisteminin manuel protokolden daha iyi olduğu belirlenmiştir. RAL boyama sisteminin kısa ve konvansiyonel protokolleri arasında performans açısından fark saptanmamıştır.

Benzer çalışmalar değerlendirildiğinde, ülkemizde bu konuyla ilgili yapılmış başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Literatür incelemesinde ise yalnızca bir çalışma olduğu görülmüştür. Ticari florokrom boyama ve RAL boyama sisteminin performanslarının değerlendirildiği ve 58 balgam, 51 balgam dışı solunum örneği

ve 23 solunum dışı örnek olmak üzere toplam 132 klinik örneğin incelendiği bu çalışmada, yayma sonuçlarının değerlendirilmesi açısından her iki yöntem arasında tam bir uyum saptanmış ve RAL boyama sisteminin araştırmayı yapan laboratuvar tarafından günlük rutinde kullanımına karar verilmiştir⁽⁹⁾.

Bu çalışmada, RAL otomatize boyama sisteminde hiçbir örnekte çapraz kontaminasyon saptanmamış ve kısa protokol ile 20 dakika içinde yaymaların mikroskopik değerlendirmeye hazır hâle geldiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, RAL otomatize boyama sisteminin kapalı bir sistem olduğu için laboratuvardaki kimyasal kontaminasyonu azaltacağı ve günlük uygulamalarda orta veya yüksek sayıda boyama yapılan özelleşmiş laboratuvarlarda zamandan tasarruf sağlamak ve boyama standardizasyonunu arttırmak için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma RAL Diagnostics tarafından finanse edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2018. https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/ (Erişim tarihi: Aralık 2018)
2. Mugusi F, Villamor E, Urassa W, Saathoff E, Bosch RJ, Fawzi WW. HIV co-infection, CD4 cell counts and clinical correlates of bacillary density in pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2006;10(6):663-9.
3. Chandra TJ, Selvaraj R, Sharma YV. Same day sputum smear microscopy for the diagnosis of pulmonary tuberculosis: Ziehl-Neelsen versus fluorescent staining. *J Family Med Prim Care*. 2015;4(4):525-8. <https://doi.org/10.4103/2249-4863.174273>
4. Tiemersma EW, van der Werf MJ, Borgdorff MW, Williams BG, Nagelkerke NJ. Natural history of tuberculosis: duration and fatality of untreated pulmonary tuberculosis in HIV negative patients: a systematic review. *PloS One*. 2011;6(4):e17601. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017601>
5. RAL STAINER-clinical diagnostics products. https://www.biomerieux-diagnostics.com/sites/clinic/files/9304423_002_gb_a_ral_stainer_ok.pdf (Erişim Tarihi: Aralık 2018).
6. Kent PT, Kubica GP. *Public Health Mycobacteriology: A guide for the Level III Laboratory* PB86216546. Centers for Disease Control, Atlanta, GA, 1985.
7. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159-74. <https://doi.org/10.2307/2529310>
8. Akobeng AK. Understanding randomised controlled trials. *Arch Dis Child*. 2005;90(8):840-4. <https://doi.org/10.1136/adc.2004.058222>
9. Gérôme P, Fabre M, Soler C. Evaluation of the Fluo-RAL (RAL) kit for the identification of mycobacteria by fluorescence microscopy. *Pathol Biol (Paris)*. 2011;59(5):245-7. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.10.012>
10. Getahun H, Harrington M, O'Brien R, Nunn P. Diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in people with HIV infection or AIDS in resource-constrained settings: informing urgent policy changes. *Lancet*. 2007;369(9578):2042-9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60284-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60284-0)