



**SAĞLIK HİZMETLERİ MESLEK
YÜKSEKOKULU**

**PATOLOJİ LABORATUVAR
TEKNİKLERİ PROGRAMI**

PLT104-Histoteknoloji 2

Öğretim Görevlisi Dr. Nurhan ÇON

**SİTOLOJİDE BOYAMA
YÖNTEMLERİ**

PLT104-Histoteknoloji 2

Hafta-12



SİTOLOJİK BOYAMA YÖNTEMLERİ

- Sitolojik preparatlara uygulanan fiksasyon yöntemine göre boyama yöntemi seçilmeli ya da tercih edilen boyama yöntem,ne göre tespit yapılmalıdır.
- **Alkol fiksasyonlu preparatlarda,**
 - ☐ Papanicolaou (PAP)
 - ☐ Hematoksilen-eozin
 - ☐ Sitokimyasal
 - ☐ İmmünohistokimyasal boyama yöntemleri uygulanır.
- **Havada kurutulan preparatlarda,**
 - ☐ Romanovski tipi boyaları, Giemsa türevleri (MGG, Wright, Diff-Quick) boyama yöntemleri uygulanır.



- Temel iki boyama tekniği PAP ve Romanovski, her iki tekniğinde kendine göre üstünlükleri ve tercih sebepleri vardır. Ancak genelde sınırlı lamın bulunduğu durumlarda serviko-vajinal sitolojide PAP, İİASda MGG/Giemsa dır.



Yaymaların Boyaya Hazırlanması

- Kliniklerden hazırlanarak gönderilen yaymaların sayısı istem raporuna kaydedilir.
- Örneğin sitoloji takip numarası lamlar üzerine sitoloji kodu "S", takip numarası (0001) ve gönderilme yılı (S- 0001-09, S- 0002 -09....) Çeklinde yazılır.
- Yazım işlemi bitmiş yaymalar uygulanacak boya çeşidine göre ayrı lam taşıma sepetlerine yerleştirilir.
- Havada kurutulmuş yaymaların tam olarak kurumuş olmasına dikkat edilir.
- PAP boyası uygulanacak lamlar, fiksasyon süresi bitiminde boyama işlemine alınır.



Lam yazımı



Lamların lam taşıma sepetine dizilmesi



PAP Boyası

- PAP boyası; Papanicolaou'nun geliştirdiği multikromatik boyama tekniğidir ve
- Harris Hematoksilen,
- orange G ve
- EA(eosin azure) boyalarından oluşur.



- Hematoksilen; nükleous boyası olup kromatin ile nükleer membranları mavi-mora, nükleolü kırmızı, pembe ya da oranj renge boyar.
- Orange G; sitoplazmaya kolay penetre olan bir boyadır. Keratin mevcutiyyetinde sitoplazmayı sarı ya da portakal rengi boyar.
- AE; eosin Y, light green ve bismark browndan oluşan polikrom bir karışımdır. İçeriğini oluşturan boyaların kombinasyonlarına göre AE-36, AE-50 ve AE -65 olarak üç çeşidi vardır.



- EA(eosin azure)
- Eosin Y; asodifilik sitoplazmalı hücreler eosin için afinite göstererek pembeden sarıya değişen tonlarda boyar.
- Light green; bazofilik bir boyadır. Bazofilik sitoplazmalı hücreler soluk mavi (siyonofilik) ya da yeşilimsi mavi boyanır.
- Bismark brown: Glikojen, keratohyalin granüller ve bazı mantarlarda kahverengi boyama gözlenir.



- PAP boyası aşağıda belirtilen sitolojik materyallerden hazırlanan ve alkolle fiksasyonu yapılan yaymaların boyanmasında kullanılır.
- Jinekolojik smear
- BOS
- Balgam
- Bronşial yıkama/fırçalama
- Plevra, periton ve perikard sıvıları
- İdrar
- İİAS

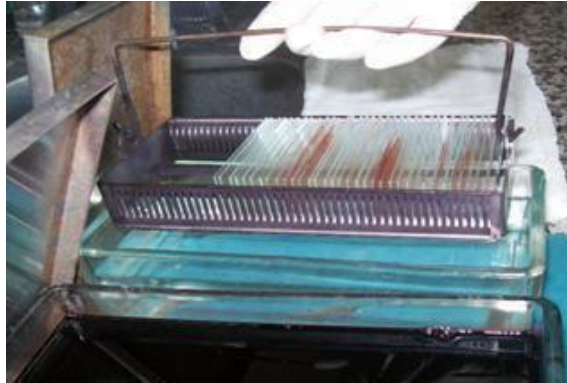


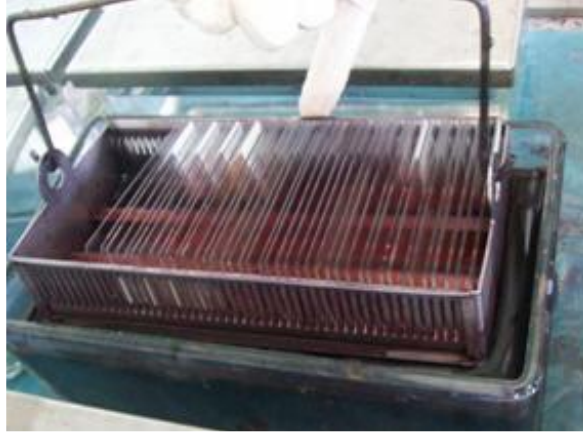
PAP Boyama Tekniği

- %95'lik etil alkolde tespit edilmiř yaymalar, azalan konsantrasyonlu alkollerden geçirilir.
- Hematoksilen özeltisi hazırlamada çözücü madde olarak su kullanılır ve su oranı yüksek bir boyadır. Alkolle fikse edilmiş hücre öncelikle boyayla uyum sağlaması için kademeli olarak su seviyesine getirilmelidir (rehidre).



- Bu amaçla %95'lik etil alkolden çıkarılan preparatlar sırayla,
- %85'lik alkol,
- %75'lik alkol,
- %50'lik alkollerden geçirilir.





- Yaymalar çeşme suyunda 3-5 dakika yıkanır.
- Harris hematoksilende 45 saniye – 2 dakika bekletilir.



Lamlar, çeşme suyunda yıkanarak fazla boya giderilir.

Lamlar, asit alkolde 10 saniye çalkalanır.

Diferansiyasyonla hücrelerin almış olduğu fazla boya uzaklaştırılır.



- Lamlar, hızlıca çeşme suyuna sokularak diferansiyasyon durdurulur.
- Yaymalar artan konsantrasyonlu alkollerden sırayla geçirilir.
- %50'lik alkol,
- %75'lik alkol,
- %85'lik alkol,
- %95'lik etil alkol içine 10 -12 kez daldırılıp çıkarılır. Hücrelerin almış olduğu hematoksilen tespit edilir.



- Lamlar iyice süzülerek orange- G boyasında 3 dakika bekletilir.
- Lamlar boyasından süzülerek orange G boyasından çıkarılır.
- Üç ayrı kaptaki %95'lik etil alkol içinde 10 - 12 kez daldırılıp çıkarılır. Preparattaki fazla boya çıkarılarak orange G tespit edilir.
- İyice süzülen preparatlar EA-50 boyasında 3 dakika bekletilir. Smearlar 5 dakika bekletilir.



- Üç ayrı kaptaki %95'lik etil alkol içinde 10 - 12 kez daldırılıp çıkarılır. Preparattaki fazla boya çıkarılarak EA-50 boyası tespit ve hücreler dehidre edilir.
- Lamlar üç ayrı ksilol kabından geçirilir. Hücreler saydamlaştırılır.
- Prepatların yayma/smear olmayan yüzü gazlı bezle silinir. Yayma üzerine 1-2 damla Kanada balzamu/entelland damlatılarak hava kabarcığı oluşturmada lamelle kapatılır. Lamlar mapeye dizilir.



PAP boyasında dikkat edilmesi gereken hususlar

- PAP boyasında solüsyonlar en fazla 15 gün kullanılmalıdır. İş yüküne bağlı olarak bu süre daha da kısa olmalıdır.
- Boya setindeki çözeltilerin kapakları devamlı kapalı olmalıdır.
- Hematoksilen boyası üzerinde oluşan artefakt, boyaya başlamadan önce süzgeç kâğıdı ile alınmalıdır.
- Hematoksilen boyasında oksidasyona bağlı çökelti oluşmuşsa boya süzüldükten sonra kullanılmalıdır.
- Boyalar üzerinde mantar üremelerine karşı dikkatli olunmalıdır. Boya seti kapları uygun dezenfektanlarla yıkanmalıdır.



Romanowski Tipi Boyalar (May Grünwald Giemsa, Wright, Diff-Quick)

- Bu boyalar metilen mavisi ve eozin içerir.
- Hücreler arası matriksi ve sitoplazmik özellikleri göstermede etkilidir.
- Hızlı uygulanabilmesi ve kolaylığı avantajıdır.
- Ancak yaymaların ince hazırlanması ve hızlı kurutulmuş olması boyanın etkinliğini artırır.
- Yavaş kuruma artefaktları artırır.



May-Grünwald - Giemsa Boyası

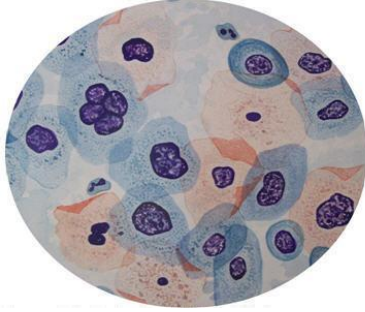
- Havada kurutulan kan yaymaları, kemik iliği yaymaları ve İİAS materyallerinden havada kurutularak fiske edilen yaymaların boyanmasında kullanılır.



May-Grünwald - Giemsa Boyama Tekniği

- Yaymalar, May –Grünwald boyasında 15 dakika bekletilir.
- Giemsa boyasında 30 dakika bekletilir.
- Akan suda yıkanır.
- Kurutulur.
- Yayma üzerine 1-2 damla Kanada balzamu/entelland damlatılarak lamlar kapatılır.
- Boyalı lamlar mapeye dizilerek laboratuvar istem raporlarıyla birlikte mikroskobik inceleme bölümüne verilir.





- Havada kurtulmuş İİAS, kan ve kemik iliği yaymalarının boyanmasında kullanılır.
- Çekirdek: kırmızı-mor
- Sitoplazma: Gri-mavi
- Keratin: Açık turkuaz mavi
- Musin: pembe-eflatun
- Kolloid: mavi renkte boyanır.

