

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

TIBBİ LABORATUVAR

**HEMATOLOJİK PREPARAT HAZIRLAMA
725TTT124**

Ankara, 2011

- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
- Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.
PARA İLE SATILMAZ.

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR.....	ii
GİRİŞ	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1	3
1. PERİFERİK YAYMA/FORMÜL LÖKOSİT	3
1.1. Formül Lökosit İçin Preparat Hazırlama Yöntemi.....	3
1.1.1. Lâml Yöntemiyle Preparat Hazırlama	3
1.1.2. Lâmel Yöntemi ile Preparat Hazırlama.....	6
1.1.3. Periferik Yayma Yaparken Dikkat Edilecek Noktalar	8
UYGULAMA FAALİYETİ.....	9
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	10
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	11
2. PERİFERİK YAYMA PREPARATINI BOYAMA.....	11
2.1. Boyaların hazırlanması.....	11
2.1.1. Wright boyası	11
2.1.2. Giemsa Boyası.....	14
2.1.3. May-Grunwald-Giemsa Boyası.....	18
2.2. Periferik Yayma Preparatı Boyama Yöntemleri	20
2.2.1. Wright Boyama Tekniği.....	20
2.2.2. Giemsa Boyama Tekniği.....	23
2.2.3. My - Grunwald – Giemsa Boyama Tekniği	25
2.3. Periferik Yayma Preparatı Boyamada Dikkat Edilecek Noktalar.....	28
2.4. Formül Lökosit Sayımı	28
2.4.1. Normal Bir Yaymada Görülen Hücreler Ve Normal değerleri.....	28
UYGULAMA FAALİYETİ.....	33
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	35
MODÜL DEĞERLENDİRME.....	36
CEVAP ANAHTARLARI.....	38
ÖNERİLEN KAYNAKLAR.....	39
KAYNAKÇA	40

AÇIKLAMALAR

KOD	725TTT124
ALAN	Tıbbi Laboratuvar
DAL/MESLEK	Tıbbi Laboratuvar Teknisyenliği
MODÜLÜN ADI	Hematolojik Preparat Hazırlama
MODÜLÜN TANIMI	Hematoloji laboratuvarında yayma preparat yapabilme, boya hazırlama ve boyama ile ilgili bilgi ve becerilerin kazandırıldığı öğrenme materyalidir.
SÜRE	40/24
ÖNKOŞUL	Hematolojik analizler öncesi hazırlık ve çözelti hazırlama modülünü almış olmak.
YETERLİK	Hematolojik preparat hazırlamak.
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç Hematoloji laboratuvarında, tekniğine uygun olarak kandan periferik yayma preparatı hazırlayarak boyayabileceksiniz. Amaçlar 1. Tekniğine uygun olarak kandan periferik yayma preparatı hazırlayabileceksiniz. 2. Tekniğine uygun olarak periferik yayma preparatını boyayabileceksiniz.
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Ortam: Hematoloji laboratuvarı. Donanım: Mikroskop, lâm, lâmel, lanset, %70'lik alkol, pamuk, wright, giemsa ve may-grunwald boyası, boyama sehпасı, hassas terazi, balon joje, metil alkol, süzgeç kağıdı, cam huni.
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Modülün içinde yer alan, her faaliyetten sonra verilen ölçme araçları ile kazandığınız bilgileri ölçerek kendi kendinizi değerlendireceksiniz. Öğretmen, modülün sonunda ölçme aracı (test, çoktan seçmeli, doğru-yanlış, v.b) kullanarak modül uygulamaları ile kazandığınız bilgi ve becerileri ölçerek sizi değerlendirecektir.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Bu modül, hematoloji laboratuvarının rutin çalışması olan kandan periferik yayma preparatı hazırlama ve boyama işlemlerini içermektedir.

Periferik yayma, kan hastalıklarının tanısında kullanılan temel laboratuvar yöntemlerinden biridir. Kan hastalıklarının seyri sırasında oluşabilecek kan hücrelerindeki morfolojik değişiklikleri tespit etmek amacıyla yapılır. Aynı zamanda enfeksiyon hastalıklarının tanısında da kullanılan bir yöntemdir. Hastanın tedaviye verdiği cevabın izlenmesinde, anemi ve lösemilerde nükslerin kontrolünde de bilgi verir.

Bu modül sonunda elde edeceğiniz yeterliklerle lam ve lamel yöntemi kullanarak kandan periferik yayma preparatı hazırlama ve boyama becerilerini kazanacaksınız.

Başarılar...

ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgiler ile tekniğine uygun olarak kandan periferik yayma preparatı hazırlayabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Hematoloji laboratuvarına giderek kandan periferik yayma preparatı hazırlama tekniklerini izleyiniz.
- Laboratuvardaki gözlemlerinizi arkadaşlarınızla paylaşınız.

1. PERİFERİK YAYMA/FORMÜL LÖKOSİT

Periferik yayma, kan veya kemik iliğinden alınan örneklerden şekilli elemanların morfolojik olarak incelenmesi ve lökositlerin % oranlarının belirlenmesi amacıyla yapılan bir işlemdir. Periferik yayma, anemi tiplerinin belirlenmesi ve birçok hastalıkların tanısında önemlidir. Amaç kanda veya kemik iliğinde bulunan hücreleri morfolojik olarak incelemek, lökositlerin % oranlarını ve boyama özelliklerini tespit etmektir.

1.1. Formül Lökosit İçin Preparat Hazırlama Yöntemi

Formül lökosit için preparat, lam ve lamel yöntemiyle hazırlanır.

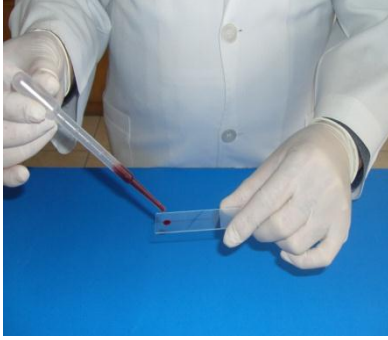
1.1.1. Lâm Yöntemiyle Preparat Hazırlama

- **Araç ve Gereçler**
 - %70'lik alkol
 - Pamuk
 - Lanset
 - Lâm
- **Teknik**
 - Kişisel koruyucu güvenlik önlemleri alınır.
 - Temiz iki lâm alınır.
 - Tekniğine uygun olarak kapiller veya EDTA'lı tüpe venöz kan alınır.



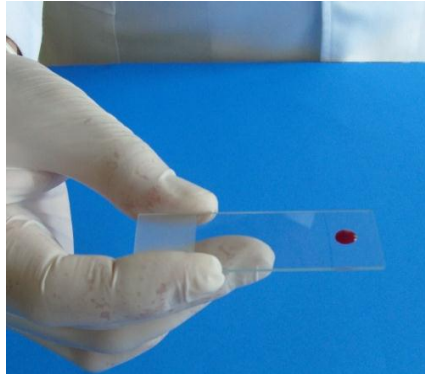
Resim 1.1: Kapiller kan alma

- Lâmin uç kısmının yakın bölümüne bir damla kan konur. Kapiller kan alınırken lâm cilde temas ettirilmemelidir.



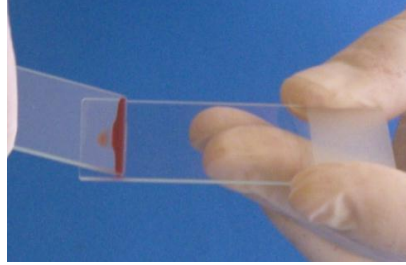
Resim 1.2: Lâma kan damlası koyma Resim 1.3: Lâma kapiller kan damlası alma

- Lâmin yan kenarından kan damlası üstte gelecek şekilde ve damlanın olmadığı köşeden sol el baş ve işaret parmağı ile tutulur.
- Sol elin küçük parmağı ile lâm alttan desteklenir.



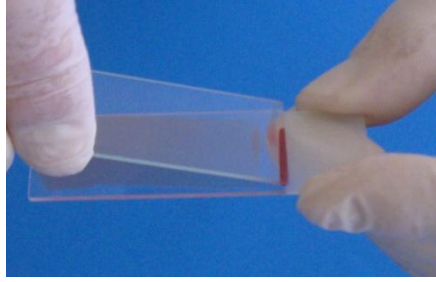
Resim 1.4: Lâmi küçük parmak ile alttan destekleme

- İkinci lâm (yayıcı lâm) sağ ele alınır, kan damlasının önüne 40 - 45° açı olacak biçimde tutulur.



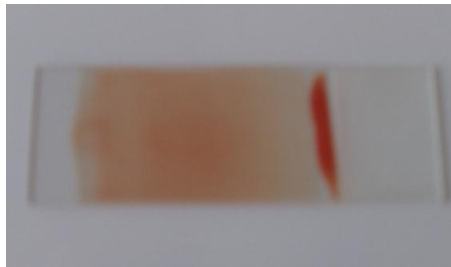
Resim 1.5: Yayıcı lâmı 40-45° tutma

- Yayıcı lam biraz geriye çekilerek kanın lamın uç kısmına dağılması sağlanır ve lâm tek bir hareketle titretmeden ileriye doğru itilerek kanın yayılması sağlanır.



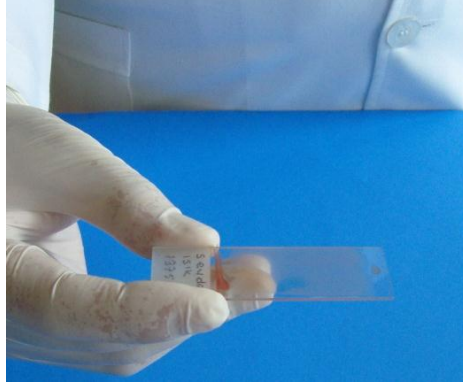
Resim 1.6: Kanı lâm üzerine yayma

- Yayma, sabit lâmin 2/3 'üne kadar sürdürülür.



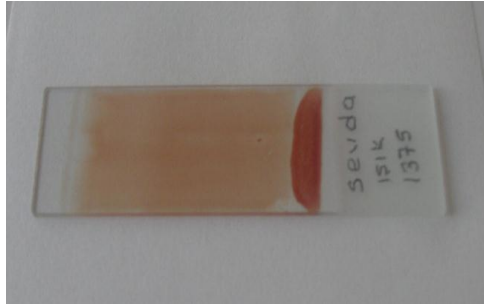
Resim 1.7: Yayma yapılmış lâm

- Hastanın ismi veya protokol numarası, lâmin boş kısmına yazılır.



Resim 1.8: Hasta bilgilerinin lâma yazılması

- Yayma yapılan preparat, oda sıcaklığında yayma kısmı üstte olacak şekilde temiz bir yerde kurumaya bırakılır.



Resim 1.9: Yayma preparatın kurutulması

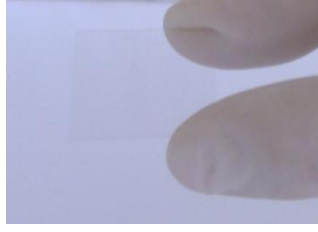
1.1.2. Lâmel Yöntemi ile Preparat Hazırlama

➤ Araç ve gereçler

- %70'lik alkol
- Pamuk
- Lanset
- Lâmel (22 x 22mm eninde ve 0,13 - 0,17 mm kalınlığında)

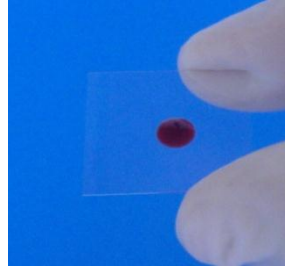
➤ Teknik

- Kişisel koruyucu güvenlik önlemleri alınır.
- İki adet temiz lâmel alınır.
- Tekniğine uygun olarak kapiller veya EDTA'lı tüpe venöz kan alınır.
- Lâmelin iki köşesinden tutularak sol elin baş parmağı ile işaret parmağı arasına alınır.



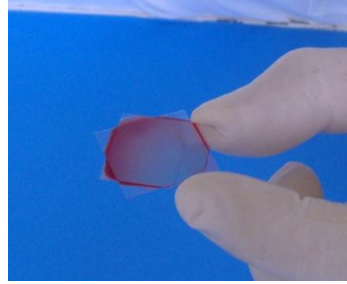
Resim 1.10: Yayma preparat yapılacak lâmel

- Lâmel üzerine (orta kısmına) bir damla kan konur. Kapiller kan kullanılacaksa cilde temas ettirmemeye dikkat edilir.



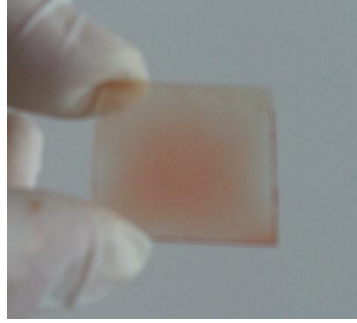
Resim 1.11: Lâmel üzerine konulmuş kan damlası

- Sağ elle ikinci bir lâmel alınır, işaret ve başparmağı ile köşelerinden tutulur.
- İkinci lâmel, kan damlasının üzerine gelecek şekilde lâmelin üzerine çapraz (sekiz köşe olacak şekilde) konur ve kanın, iki lâmel arasında yayılması sağlanır.



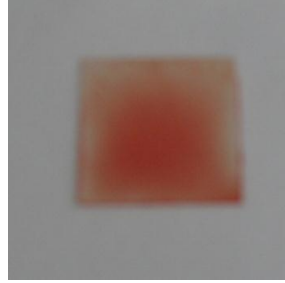
Resim 1.12: Lâmele yayılmış kan

- İki lâmel baskı yapmadan ve pıhtılaşma olmadan birbiri üzerinden kaydırılarak çekilir ve birbirinden ayrılır.



Resim 1.13: Lâmelerin ayrılmış şekli

- Lâmeler, yayma yapılan tarafları yukarıya gelecek şekilde temiz bir kağıt üzerine konur ve kurumaya bırakılır.



Resim 1.14: Yayma yapılan lâmenin oda ısısında kurutulması

1.1.3. Periferik Yayma Yaparken Dikkat Edilecek Noktalar

- Yayma yaparken kuru ve temiz lam - lameller kullanılır. Aksi halde yaymanın bozulmasına sebep olur.
- Kan yayması esnasında kanın, lâma eşit yayılmasını sağlamak için kullanılan lamaların kenarlarının düzgün olmasına dikkat edilir.
- Periferik yayma yaparken lâm veya lâmele konulan kan damlasının normalden büyük veya küçük olmamasına dikkat edilir. Kan damlası büyük olursa yayma kalın olur ve hücrelerin morfolojik incelenmesi mümkün olmaz. Kan damlası küçük ise yayma gereğinden fazla ince olur.
- Periferik yayma yaparken lâmlar birbirine kuvvetli sürtülmemelidir. Sürtme işlemi kuvvetli yapılırsa hücreler parçalanır ve yaymada artefakt (suni oluşum) oluşur.
- Kan damlası lâm ve lâmele alınır alınmaz yayma yapılması gerekir; aksi takdirde gecikirse kan hücrelerinin dağılımı değişir. Büyük lökositler yaymanın kenarında toplanır. Eritrositlerde rulo teşekkülü; trombositlerde kümeleşme görülür.
- Yayma yapılırken el titretilmemelidir. Titreşim kan hücrelerinin düzgün dağılımını engeller ve sayımda hatalı sonuçlara neden olur.
- Eritrositlerde şekil bozukluğu oluşmasını önlemek için yaymanın kısa sürede kurutulması gerekir.
- Periferik yayma kurumadan boyama yapılmaması gerekir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Bu faaliyette kazandığınız bilgiler ile tekniğine uygun olarak kandan periferik yayma preparatı hazırlayabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Lâm yöntemi ile periferik yayma yapmak için araç ve gereçleri hazırlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Kişisel güvenlik önlemleri alınız,➤ Lâmin temiz ve kenarlarının düzgün olup olmadığını kontrol ediniz,
<ul style="list-style-type: none">➤ Tekniğine uygun olarak kapiller veya EDTA'lı tüpe venöz kan alınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Venöz kan kullanılacaksa antikoagülan madde olarak EDTA kullanınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Lâmi iki köşesinden tutarak sol elin baş ile işaret parmağı arasına alınız.	
<ul style="list-style-type: none">➤ Lâmin ucuna yakın bir kısmına kan damlatınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Alınan kandamlasının çok büyük ve küçük olmamasına dikkat ediniz.➤ Kapiller kanı lama alırken lâmin cilde temas etmemesine dikkat ediniz.➤ Kanı, sol el ile tutulan lâmin diğer uç orta kısmına damlatınız.➤ Lâmi kandamlası üstte gelecek şekilde tutunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ İkinci lâmi (yayıcı lâmi) sağ elinize alarak kandamlasının önüne 40 – 45° açı olacak biçimde tutunuz.	
<ul style="list-style-type: none">➤ Yayıcı lâmi önce geriye sonra ileriye doğru iterek kanın lâmi üzerine yayılmasını sağlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Yayıcı lâmin kenarlarının düzgün olduğunu kontrol ediniz.➤ İki lâmi arasındaki açının 40-45° olduğundan emin olunuz.➤ Yayıcı lâmi ileri hareket ettirirken elinizi titretmeyiniz.➤ Yayıcı lâmi sabit lâmin 2/3 'üne kadar sürdürünüz.➤ Yayılan kanın, kalın ve çok ince tabaka olmamasına dikkat ediniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Hastanın adını, soyadını ve protokol numarasını lâmin boş kısmına yazınız.	
<ul style="list-style-type: none">➤ Preparatı, oda sıcaklığında yayma kısmı üstte olacak şekilde temiz bir yerde kurumaya bırakınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Preparatı kuruturken toz vb. partiküllerin üzerine konmaması için önlem alınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Kanda bulunan lökosit hücrelerinin morfolojik görünümünü belirlemek, % oranlarını ve boyanma özelliklerini tespit etmek amacıyla yapılan laboratuvar yöntemi, aşağıdakilerden hangisidir?
A) Kültür
B) Gram boyama
C) Formül lökosit
D) Sedimantasyon
E) Hematokrit
2. Aşağıdakilerden hangisi, periferik yayma hazırlama yöntemidir?
A) Lam yöntemi
B) Tüp yöntemi
C) Pipet yöntemi
D) Kılcal pipet yöntemi
E) Hepsi
3. Aşağıdakilerden hangisi, lam yöntemiyle periferik yayma hazırlamada kullanılan araç ve gereçlerdendir?
A) Lamel
B) Öze
C) Eküvyon
D) Lam
E) Pipet
4. Aşağıdakilerden hangisi, periferik yayma yapılırken dikkat edilecek hususlardan değildir?
A) Kan damlası lam ve lamele alınır alınmaz yayılmalıdır.
B) Yayma esnasında el titretilmemelidir.
C) Lam ve lamele konulan kan damlası normalden büyük ve küçük olmamalıdır.
D) Periferik yayma yapılırken lâmlar birbirine kuvvetli sürtülmemelidir.
E) Periferik yayma kurumadan boyanmalıdır.
5. Aşağıdakilerden hangisi formül lökosit hazırlama amaçlarından değildir?
A) Kan hücrelerini şekil ve yapı bakımından incelemek.
B) Kan hücrelerinin boyanma özelliklerini incelemek.
C) Lökositlerin % oranlarını tespit etmek.
D) Kan hücrelerinin morfolojik özelliklerini incelemek.
E) Kan hücrelerinin birbirleri ile olan ilişkilerini incelemek.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgiler ile tekniğine uygun olarak periferik yayma preparatını boyayabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

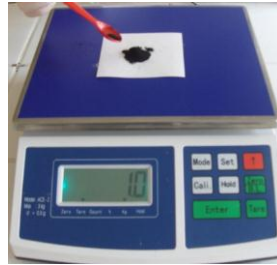
- Hematoloji laboratuvarına giderek periferik yaymada kullanılan boyalar hakkında bilgi edininiz.
- Hematoloji laboratuvarına giderek periferik yaymada kullanılan boyaların hazırlanışını izleyiniz.
- Hematoloji laboratuvarına giderek periferik yaymada yapılan boyama tekniğini izleyiniz.
- Laboratuvardaki gözlemlerinizi sınıf ortamında arkadaşlarınızla paylaşınız.

2. PERİFERİK YAYMA PREPARATINI BOYAMA

2.1. Boyaların Hazırlanması

2.1.1. Wright Boyası

- Araç-gereçler
 - Hassas terazi
 - Havan
 - Mezür
 - Koyu renkli şişe
 - Huni
 - Süzgeç kağıdı
 - Metil alkol (saf)
 - Wright boyası
- Hassas terazide 1 gram Wright boyası tartılır.



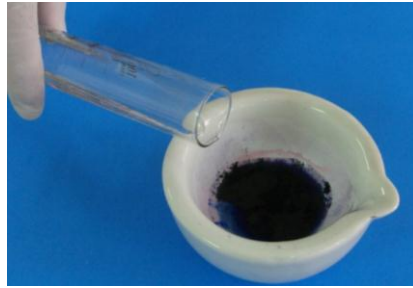
Resim 2.1: Hassas terazide boya tartımı

- Tartılan boya havana içine konur.
- Mezüre 400 ml saf metil alkol konur.



Resim 2.2: Tartılan boyayı havana koyma ve metil alkolü ölçme

- Havadaki boyanın üzerine 8-10 ml metil alkol konur.



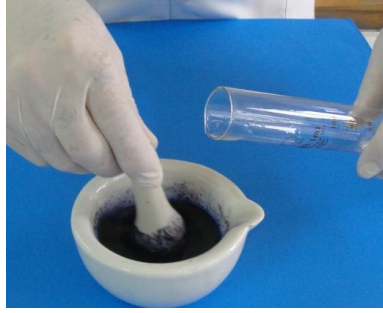
Resim 2.3: Boya üzerine bir miktar metil alkol konulması

- Boya alkol karışımı içinde ezilir.



Resim 2.4: Boyayı metil alkol içinde ezme

- Birkaç defa metil alkol ilave ederek boyanın tamamen ezilmesi sağlanır. Bu işleme, bir saat kadar devam edilir.



Resim 2.5: Havana bir miktar metil alkol ilave edilmesi

- Hazırlanan boya çözeltisinin tamamı şişeye aktarılır.



Resim 2.6: Havanda ezilen boyanın şişeye aktarılması

- Mezürde kalan metil alkol şişe içine konur ve şişenin kapağı hava almayacak şekilde kapatılır.
- Şişe alt üst edilerek çözeltinin homojen bir şekilde karışımı sağlanır.
- Hazırlanan çözelti +4°C de 1-2 gün bekletilir.
- Çözelti renkli bir şişeye süzülür.
- Hazırlanan stok boya şişesinin ağzı, sıkıca kapatılarak saklanır.



Resim 2.7: Boyanın süzülmesi



Resim 2.8: Stok boya şişesi

2.1.2. Giemsa Boyası

➤ Araç-gereçler

- Benmari
- Renkli şişe
- Hassas terazi
- Havan
- Mezür
- Cam huni
- Süzgeç kağıdı
- Giemsa boyası (toz halinde)
- Tampon çözelti
- Di sodyum hidro fosfat
- Potasyum hidro fosfat
- Metil alkol
- Distile su

➤ Stok giemsa boyası

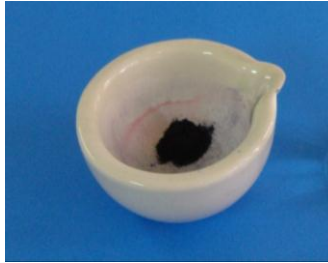
- Toz giemsa boyası 1 gr.
- Gliserin 66 ml.
- Metil alkol 66 ml.

- Hassas terazide 1 gram Giemsa boyası tartılır.



Resim 2.9: Hassas terazide boyanın tartılması

- Toz halindeki giemsa boyası havana konur.



Resim 2.10: Havana konmuş boya

- Havadaki boya üzerine azar azar gliserin eklenerek karışım sağlanır.



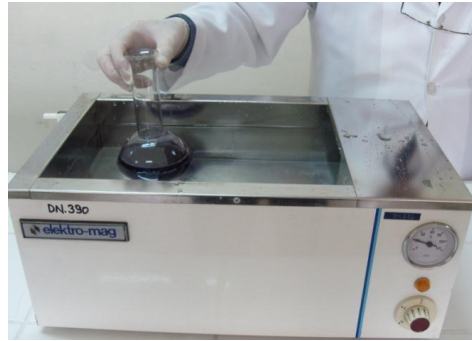
Resim 2.11: Boyanın gliserinde ezilmesi

- Karışım, balon jojeye aktarılır.



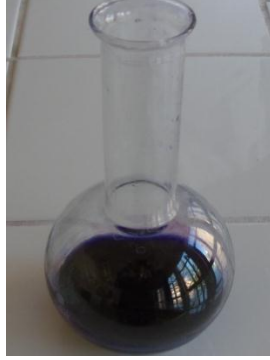
Resim 2.12: Balon jojeye konmuş boya

- Benmari 50 -55 °C de ısıtılır.
- Balon joje benmariye konur.
- Toz boya tamamen eriyinceye kadar benmaride tutulur.



Resim 2.14: Boyanın benmaride bekletilmesi

- Boya eridikten sonra balon joje benmariden çıkartılır.
- Oda ısısında soğutulur.



Resim 2.15: Boyanın oda ısısında soğutulması

- Balon jojeye 66 ml metil alkol eklenir. Homojen bir şekilde karışımı sağlanır.



Resim 2.16: Boyaya metil alkol eklenmesi

- Hazırlanan solüsyon renkli bir şişeye aktarılır, ağzı kapatılarak 2-3 hafta oda ısısında bekletilir.



Resim 2.17: Stok boya şişesi

- Bekletilen boya, süzgeç kağıdı ile süzülerek renkli şişede stok giemsa boyası olarak saklanır.



Resim 2.18: Boyanın süzülmesi



Resim 2.19: Boyanın renkli şişede saklanması

➤ Tampon çözelti hazırlama

- Di sodyum hidro fosfat anhidre, 9,5 gr tartılarak balon jöjeye konur, üzerine 1000 ml distile su ilave edilerek eritilir.
- Potasyum hidro fosfat anhidre 9,1 gr tartılarak balon jöjeye konur, üzerine 1000 ml distile su ilave edilerek eritilir.
- 1000 cc lik temiz bir balon jöje alınır.
 - Yukarıda hazırlanan di sodyum hidro fosfat çözeltisinden 61,1 ml alınarak balon jöjeye konur.
 - Potasyum hidro fosfat çözeltisinden 38,9 ml alınarak balon jöjeye konur.
 - Balon jöjeye 900 ml distile su eklenerek 1000 ml ye tamamlanır.
 - Balon jöje, dairesel hareketlerle sallanarak içindeki kimyasal maddelerin homojen bir şekilde karışımı sağlanır.
 - Hazırlanan tampon çözelti renkli şişeye konur ve oda ısısında saklanır.

➤ Giemsa boyası hazırlama

- Mezüre 10 ml tampon çözelti konur.
- Üzerine 12 damla stok giemsa boyası konur.



Resim 2.20: Tampon Çözelti konmuş mezür



Resim 2.21: Tampon çözeltiye stok giemsa boyasının eklenmesi

- Karışım homojen hale getirilir.



Resim 2.22: Tampon çözeltinin karıştırılması

2.1.3. May-Grunwald-Giemsa Boyası

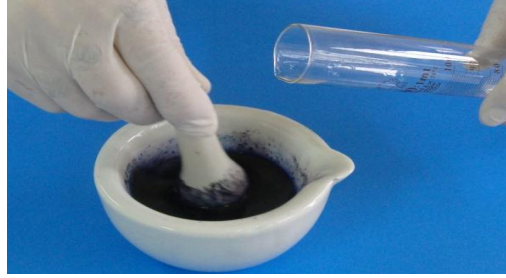
- Araç-gereçler
 - Hassas terazi
 - Renkli şişe
 - Havan
 - Mezür
 - Huni
 - Süzgeç kağıdı
 - Balon joje
 - Metilen mavisi (toz halinde)
 - % 95 lik metil alkol
 - Distile su

- May-Grunwald (eozin –metilen mavisi) boyası
 - 0.25 gr metilen mavisi toz boya tartılır.
 - Tartılan boya, havana konarak ezilir.



Resim 2.24: Boyanın havanda ezilmesi

- Ezilen boyanın üzerine 100 ml %95' lik metil alkol azar azar dökülerek karıştırılır.



Resim 2.25: Havana metil alkol ilave edilmesi

- Havandaki karışım, kapaklı renkli şişeye konur.

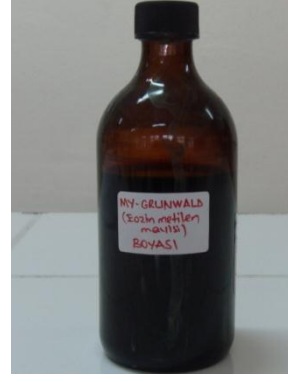


Resim 2.26: Boyanın şişeye aktarılması

- Şişenin ağzı, hava almayacak şekilde kapatılır.
- Bir gün oda sıcaklığında bekletilir.
- Bekletilen boya süzgeç kağıdı ile süzülür.
- Renkli şişeye konur.
- Şişenin ağzı hava almayacak şekilde kapatılır.



Resim 2.28: Bekletilen boyanın süzülmesi



Resim 2.29: Stok boya şişesi

2.2. Periferik Yayma Preparatı Boyama Yöntemleri

2.2.1. Wright Boyama Tekniği

- Araç – gereçler
 - Boyama sehpası
 - Pens
 - Metil alkol
 - Stok Wright boyası
- Teknik
 - 1 ml distile suya 1-2 damla stok wright boyası konur ve karıştırılarak homojen hale getirilir.



Resim 2.30: Distile suya boya ilavesi

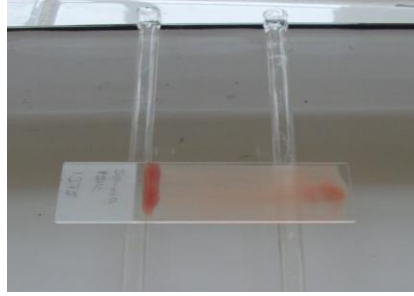


Resim 2.31: Boya ile distile suyu karıştırma



Resim 2.32: Boyama sehпасı

- Tekniğine uygun olarak hazırlanan ve oda ısısında kurutulan yayma preparat, yayma yapılan kısım yukarıya gelecek şekilde boyama sehпасının ızgarası üzerine konur.



Resim 2.33: Yayma preparatın boyama sehпасına yerleştirilmesi

- Metil alkol yayma preparat üzerini kaplayacak şekilde dökülerek 5 dakika tespit edilir.



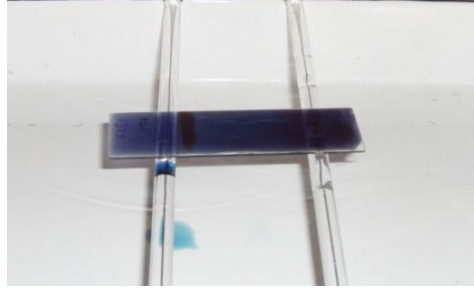
Resim 2.34: Yayma preparatın tespit edilmesi

- Lamın kenarından pens ile tutulur ve üzerindeki metil alkol dökülür.



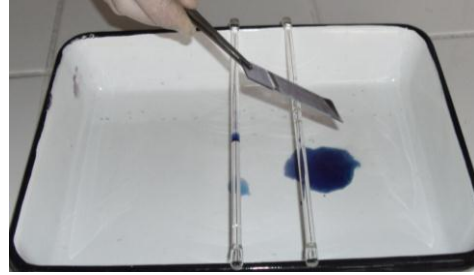
Resim 2.35: Preparat zerindeki alkolün dökülmesi

- Sulandırılmış Wright boyası yayma preparat üzerine kaplayacak şekilde konulur.



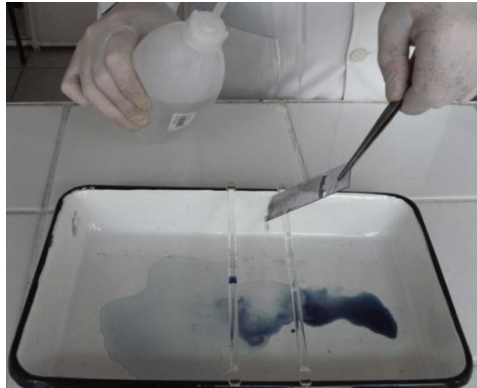
Resim 2.36: Yayma preparat üzerine boya koyma

- Kan hücrelerinin boyanması için 15-30 dakika beklenir.
- Lam/lamelin kenarından pens ile tutulur ve üzerindeki boya dökülür.



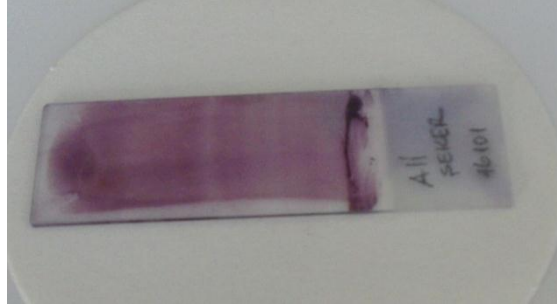
Resim 2.37: Preparat üzerindeki boyanın dökülmesi

- Boyama yapılan yayma preparat, son damlası berrak oluncaya kadar distile su ile yıkanır.



Resim 2.38: Preparatın distile su ile yıkanması

- Distile su ile yıkanan yayma preparat oda ısısında temiz bir zemin üzerinde kurumaya bırakılır.



Resim 2.39: Boyalı preparat

- Boyanan yayma preparat mikroskopik inceleme için uzman hekime iletilir.

2.2.2. Giemsa Boyama Tekniği

➤ Araç – Gereçler

- Boyama sehпасı
- Pens
- Tampon çözelti
- Metil alkol
- Stok Giemsa boyası
- Distile su
- Stok Giemsa boyası

➤ Teknik

- Mezüre 10 ml tampon çözelti konur. Üzerine 12 damla Stok Giemsa boyası konarak homojen hale getirilir.
- Tekniğine uygun olarak hazırlanan ve oda ısısında kurutulmuş olan yayma preparat, yayma yapılan kısım yukarıya gelecek şekilde boyama sehпасı üzerine konur.



Resim 2.40: Yayma preparatı boyama sehпасına yerleştirme

- Yayma preparatı kaplayacak şekilde metil alkol konur.



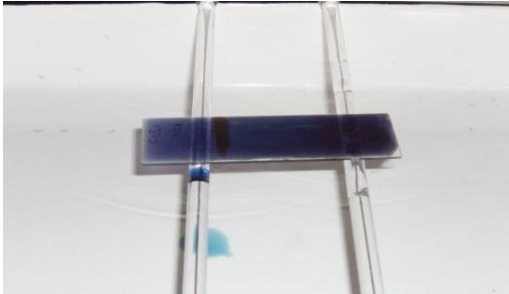
Resim 2.42: Yayma preparat üzerine metil alkol koyma

- Yayma preparatı tespit etmek için 5 dakika beklenir.
- Lam/lamelin kenarından pens ile tutularak yayma preparat üzerindeki metil alkol dökülür.



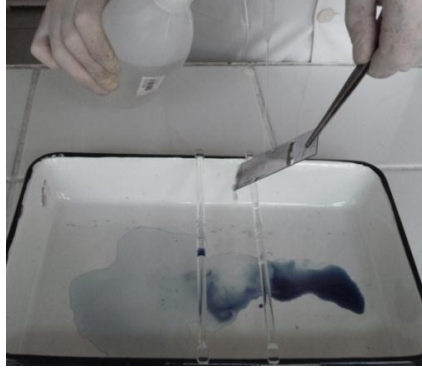
Resim 2.43: Yayma preparat üzerindeki alkolü dökme

- Yayma preparat oda ısısında kurutulur.
- Yayma preparat üzerine yayma yapılan kısmı kaplayacak şekilde Giemsa boyası dökülür. 15-30 dakika beklenir. (yayma preparat malarya veya kalaazar teşhisi amacı ile yapılırsa boyama için 50-60 dakika beklenir.)



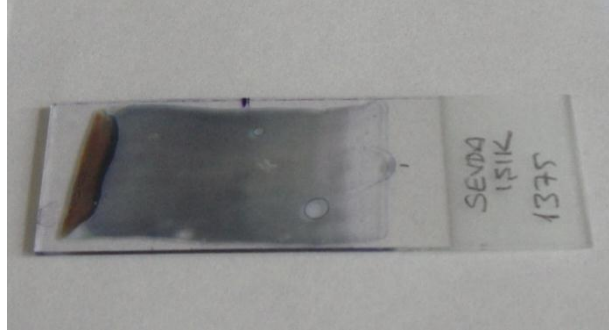
Resim 2.44: Yayma preparatı boyada bekletme

- Son damla berrak oluncaya kadar, yayma preparat distile su ile yıkanır



Resim 2.45: Yayma preparatı distile su ile yıkama

- Distile su ile yıkanan yayma preparat oda ısısında kurumaya bırakılır.



Resim 2.46: Yayma preparatın kurutulması

- Boyanan preparat mikroskopik inceleme için uzman hekime iletilir.

2.2.3. My - Grunwald – Giemsa Boyama Tekniği

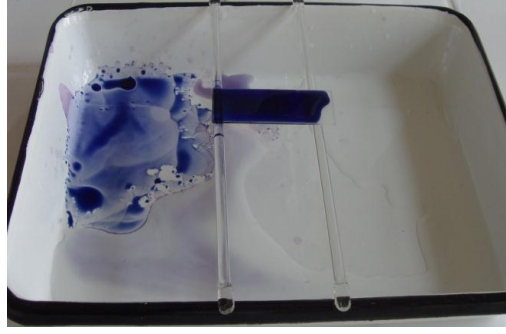
➤ Araç – Gereçler

- Boyama sehpası
- Pens
- Mezür
- Alkol
- Distile su
- My- Grunwald boyası
- Stok Giemsa boyası

➤ Teknik

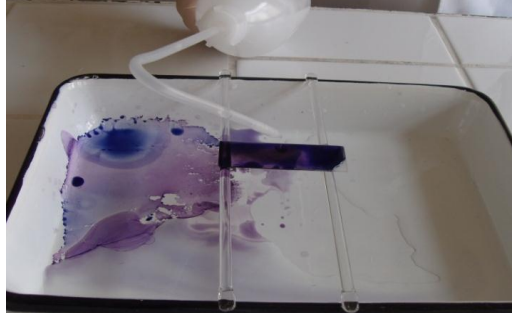
- Mezüre 10 ml tampon çözelti konur. Üzerine 12 damla stok Giemsa boyası konarak homojen hale getirilir.
- 1 ml distile suya 1-2 damla Giemsa boyası konarak homojen hale getirilir.

- Preparat, boyama sehпасına yerleřtirilir.
- May-Grunwald boyası yayma preparatı kaplayacak şekilde damla damla dökülür.
- 3 dakika beklenerek preparat tespit edilir.



Resim 2.47: Preparat üzerine boya konması

- Preparat üzerindeki boya dökülmeden ve taşırmayacak şekilde distile su eklenir. Lam üzerine hafifçe üflenerek karışması sağlanır. May-Grunwald boyası distile su ile sulandırıldıktan sonra kan hücrelerini boyama özelliği kazanır.



Resim 2.48: Preparat üzerine distile su ilave edilmesi

- 5 dakika beklenir.
- Lamın kenarından pens ile tutarak preparat üzerindeki boya dökülür.



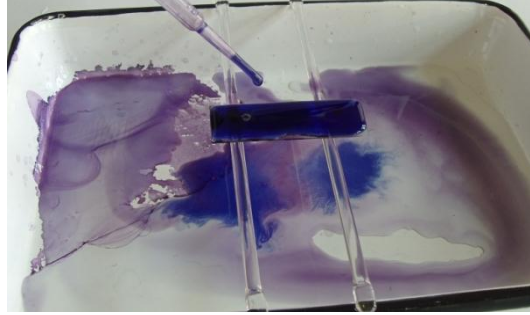
Resim 2.49: Preparat üzerindeki boyanın dökülmesi

- Preparat distile su ile yıkanır.



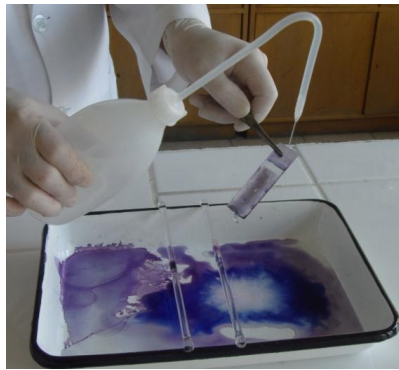
Resim 2.50: Preparatın yıkanması

- Preparat üzerine sulandırılmış Giemsa boyası konur.



Resim 2.51: Preparat üzerine boya konması

- Preparat, oda ısısında 20 dakika bekletilir.
- Preparat, son damlası berrak oluncaya kadar distile su ile yıkanır.



Resim 2.52: Preparatı yıkama

- Preparat, oda ısısında kurumaya bırakılır.
- Boyalı preparat, mikroskopta incelemek üzere uzmana gönderilir.

2.3. Periferik Yayma Preparatı Boyamada Dikkat Edilecek Noktalar

- Yayma preparatın boyanmasında kullanılan boyalar tekniğine uygun olarak hazırlanmalıdır.
- Boyamada kullanılan malzemeler, boya atıklarından temizlenmiş olmalıdır.
- Preparat kurumadan boyama işlemine başlanmamalıdır.
- Boya yeterli miktarda konulmalıdır. Az konursa kan hücreleri yeterince boyanmaz ve mikroskopik incelemede hücreler morfolojik görünüm olarak ayırt edilemez.
- Boya fazla konursa preparat üzerinde boya tabakası oluşur. Mikroskopik incelemede boya tabakası kalın olduğundan kan hücreleri morfolojik olarak ayırt edilemez.
- Boyamada zaman dilimine dikkat edilmelidir. Boyanın preparat üzerinde belirtilen süreden çok kalması hücrelerin fazla boyanmasına neden olur. Bu durum hücrelerin morfolojik görünümünü engeller ve lâm üzerinde kalan boya partikülleri trombosit görünümünü alır. Boyanın belirtilen süreden az kalması hücrelerin az boyanmasına neden olur. Mikroskopik incelemede hücrelerin morfolojik görünümü ayırt edilemez.
- Preparat, tazyiksiz distile su ile boya artığı kalmayacak şekilde tekniğine uygun olarak yıkanmalıdır.
- Preparat, boyama işlemi bittikten sonra çıplak gözle pembe görünümde olmalıdır. Boyandıktan sonra koyu mavi renk almamış olmasına dikkat edilmelidir. Koyu mavi - mor renk almış olması, preparatın kalın yayılmasından, yetersiz yıkamadan veya uzun süreli boyamadan kaynaklanır.
- Preparatın mikroskopik incelemesinde; eritrositler pembe, lökositler mavi renkte ve trombositler mavi – mor renkte görülmelidir.

2.4. Formül Lökosit Sayımı

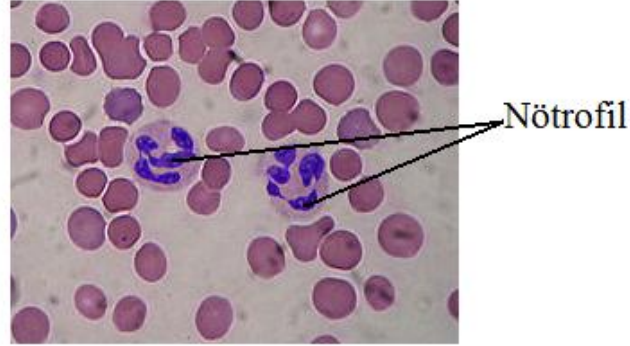
Boyanmış ve kurutulmuş yayma preparatı üzerine immersiyon yağı damlatılır. 100' lük objektif ile mikroskopta incelenir. Tekniğine uygun olarak hazırlanmış yayma preparatta kan hücreleri tek tek ve yeterli boya almış olarak görülür.

Preparat uzman hekim tarafından incelenir. 100 lökosit hücresi sayılarak % oranları belirlenip rapor edilir.

2.4.1. Normal Bir Yaymada Görülen Hücreler Ve Normal değerleri

Nötrofiller	: % 50 – 70
Lenfositler	: % 20 – 40
Monositler	: % 0 - 2
Bazofiller	: % 0 - 1
Eozinofiller	: % 0 - 2

➤ Nötrofiller

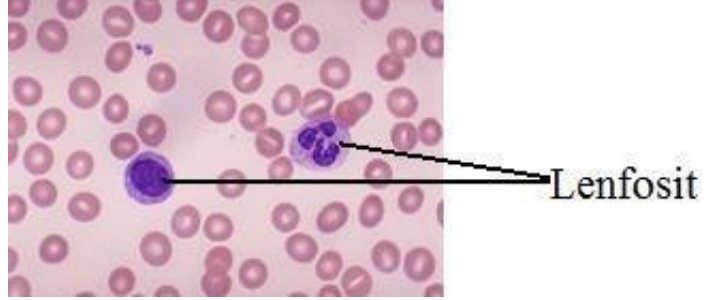


Resim 2.53: Nötrofil hücresi

- Nötrofillerin arttığı durumlar
 - Osteomyelit
 - Otitis media
 - Üriner sistem enfeksiyonları
 - Miyokard enfarktüsü
 - Yanıklar
 - Karsinoma
 - Diyabetik asidoz
 - Tirotoksikoz
 - Akut hemoraji
 - Aşırı egzersiz
 - Akut romatizmal ateş
 - Romatoid artrit

- Nötrofillerin azaldığı durumlar
 - Brusella
 - Tifo
 - Kızamık
 - Kızamıkçık
 - Kabakulak
 - Hipersplenizm
 - Karaciğer hastalıkları
 - Lösemiler
 - Aplastik anemi
 - Megablastik anemi (folik asit, B₁₂ vitamin eksikliği)

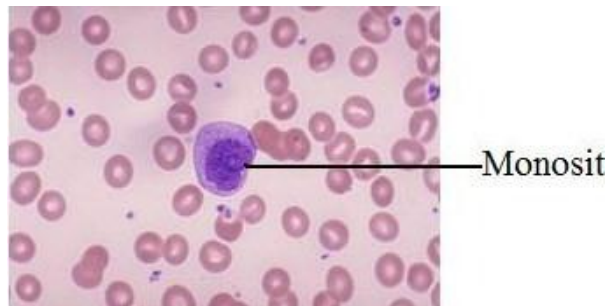
➤ Lenfositler



Resim 2.54: Lenfosit hücresi

- Lenfositlerin arttığı durumlar
 - Boğmaca
 - Brucellozis
 - Sifiliz
 - Tüberküloz
 - Hepatit
 - Kabakulak
 - Kızamıkçık
 - Enfeksiyöz mononükleozis
 - Tirotoksikoz
 - Lösemi
- Lenfositlerin azaldığı durumlar
 - Pnömoni
 - Aplastik anemi
 - İmmün yetmezlik hastalıkları
 - Konjestif kalp yetmezliği
 - Böbrek yetmezliği
 - Steroid ilaç kullanımı

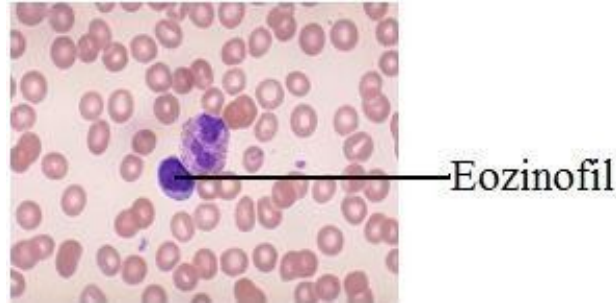
➤ Monositler



Resim 2.55: Monosit hücresi

- Monositlerin arttığı durumlar
 - Tüberküloz
 - Brusellozis
 - Monositik lösemi
 - Tifo
 - Kollagen doku hastalıkları
 - Hodgkin hastalığı
 - Sıtma
 - Karsinoma
 - Subakut bakteriyel endokardit
- Monositlerin azaldığı durumlar
 - Aplastik anemi
 - Glukokortikoidler

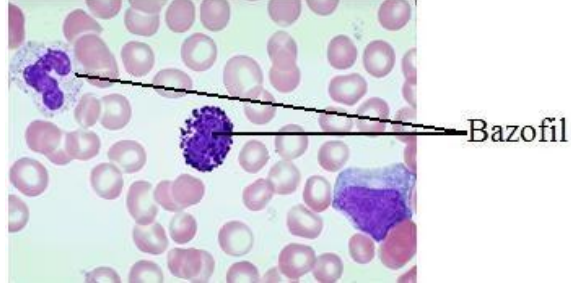
➤ Eozinofiller



Resim 2.56: Eozinofil hücresi

- Eozinofillerin arttığı durumlar
 - Allerjik hastalıklar
 - Paraziter hastalıklar
 - Cilt hastalıkları (dermatit)
 - Radyasyon tedavisinde
 - Hodgkin lenfoma
 - Mide karsinomu
 - Kollajen vasküler hastalıklar
- Eozinofillerin azaldığı durumlar
 - Hiper adrenalizm
 - Şok
 - Cushing hastalığı
 - ACTH (adrenokortikotropik hormon) tedavisinde

➤ Bazofiller



Resim 2.57: Bazofil hücresi

- Bazofillerin arttığı durumlar
 - Lösemi
 - Hodgkin lenfoma
 - Polisitemia vera
 - Hemolitik anemi
 - Splenektomi sonrası
- Bazofillerin azaldığı durumlar
 - Hipertiroidizm
 - Gebelik
 - Stres
 - Kortikosteroidler
 - Aşırı duyarlı reaksiyonlar

UYGULAMA FAALİYETİ

Bu faaliyette kazandığınız bilgiler ile tekniğine uygun olarak periferik yayma preparatını boyayabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Periferik yayma preparatını boyamak için gerekli araç gereç ve malzemeleri hazırlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Kişisel koruyucu güvenlik önlemlerini alınız,➤ Yayma preparatı tespit ederken kullanılan alkolün saf olması gerektiğini unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ 1 ml distile suya 1–2 damla stok Wright boyası koyunuz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Distile su ile boyanın cam baget ile homojen karışımını sağlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Preparatı boyama sehpa üzerine koyunuz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Havada kurutulmuş kan yaymasını, boyama ızgarasına koyarken pens kullanınız.➤ Lamın yayma yapılan kısmının yukarıya gelmesine dikkat ediniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Preparatın üzerini kaplayacak şekilde metil alkol dökerek 5 dakika tespit ediniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Zaman dilimine dikkat ediniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Preparat üzerindeki metil alkolü dökünüz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Pens ile lâm/lâmelin kenarından tutarak metil alkolü dökünüz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Preparatın üzerine Wright boyası dökünüz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Sulandırılmış Wright boyasını, preparatın üzerini kaplayacak şekilde dökünüz.
<ul style="list-style-type: none">➤ 15-30 dakika bekleyiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Zaman dilimine uyunuz.➤ Bekleme esnasında periferik yayma preparatına zarar verilmemesi için önlem alınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Preparatın üzerindeki boyayı dökünüz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Lam/lâmelin kenarından pens ile tutunuz.➤ Preparattan boyayı dökerken lâm/lâmelin çizilmemesine, boyanan kısmın özelliğini kaybetmemesine dikkat ediniz.

<p>➤ Preparatı distile su ile yıkayınız.</p>	<p>➤ Preparatı lâm/lâmelin kenarından pens ile yan vaziyette tutunuz.</p> <p>➤ Preparatı son damlası berrak oluncaya kadar tazyiksiz distile su ile yıkayınız.</p>
<p>➤ Preparatı oda ısısında kurumaya bırakınız.</p>	<p>➤ Boyama yapılan preparatı temiz bir zemin üzerinde kurumaya bırakınız.</p> <p>➤ Preparatı toz vb partiküllerden koruyunuz.</p>
<p>➤ Preparatı mikroskobik inceleme için uzman hekime gönderiniz.</p>	

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Yayma preparatı boyandığında eritrositler hangi renkte görülür?
A) Mavi-mor
B) Açık mavi
C) Koyumavi - siyah
D) Pembe
E) Yeşil
2. Aşağıdaki boyalardan hangisi, periferik yayma preparatlarının boyanmasında kullanılır?
A) Laktofenol pamuk mavisi
B) Gram
C) Metilen mavisi
D) May-Grünwald- Giemsa
E) Çini mürekkebi
3. Yayma preparatın mikroskopta incelemesinde lökositlerin çekirdeği hangi renkte görülür?
A) Mavi
B) Pembe
C) Koyumavi-siyah
D) Kırmızı
E) Sarı
4. Aşağıdakilerden hangisi, Giemsa boyama tekniğinde yayma preparatı tespit etmek amacıyla kullanılır?
A) Distile su
B) Asetik asit
C) Etil alkol
D) Metil alkol
E) Karbol fuksin
5. Aşağıdakilerden hangisi, periferik yayma preparatı boyamada dikkat edilecek hususlardan değildir?
A) Preparatı son damlası berrak oluncaya kadar tazyiksiz distile su ile yıkanmalıdır
B) Preparatı boyarken aşırı yıkama ya da yetersiz boyama yapılmamalıdır.
C) Preparatı boyarken zaman dilimine dikkat edilmelidir.
D) Preparat kurumadan boyama işlemi yapılmamalıdır.
E) Preparatı boyama yaparken lam ve lamelin kenarından tutulmamalıdır.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırmınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme”ye geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

1. Kan ve kemik iliğinden alınan örneklerden, şekilli elemanların morfolojik olarak incelenmesi ve lökositlerin % oranlarının belirlenmesi amacı ile yapılan işleme,..... denir.
2. Periferik yayma preparatı yapılırken kan damlası lâm veya lâmele alındıktan sonra yayma yapma gecikirse eritrositlerde teşekkülü, trombositlerde görülür.

Aşağıdaki cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise D, yanlış ise Y yazınız.

3. () Yayma preparatta kapiller kan kullanılacaksa cilde temas ettirilerek lâma kan konur.
4. () Periferik yayma yapılırken kanın düzgün yayılmasını sağlamak için lâmlar yayma esnasında birbirine kuvvetlice sürtülmelidir.
5. () Periferik yayma preparatı boyama yaparken boya belirtilen miktardan az konursa mikroskopik incelemede hücreler morfolojik görünüm olarak ayırt edilemez.

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

6. Periferik yayma preparatı hazırlama tekniğinde aşağıdaki işlem basamağından hangisi uygulanır?
A) Yayma yapılacak lamın herhangi bir yerine bir damla kan konur.
B) Yayma preparatta EDTA'lı kan kullanılmaz.
C) Yayıcı lam kan damlasının önüne ve iki lâm arasında 40-45° açı olacak biçimde tutulur.
D) Yayma preparatta kullanılan kan damlası büyük olmalıdır.
E) Periferik yayma yapılırken lâmlar birbirine kuvvetlice sürtülmelidir.
7. Periferik yayma yaparken lâmlar birbirini kuvvetlice sürtülerek kan yayması yapılırsa mikroskopta inceleme esnasında aşağıdakilerden hangisi görülür?
A) Artefakt
B) Hipokromi
C) Sferosit
D) Ovalosit
E) Akantosit

8. Giemsa boyası hazırlanırken 100 ml tampon çözeltisi üzerine kaç damla stok Giemsa boyası konur?
A) 120 damla
B) 12 damla
C) 150 damla
D) 15 damla
E) 1 damla
9. Wright boyama tekniğinde yayma preparatta Wright boyası konulduktan sonra hücrelerin boyama özelliğini kazanması için kaç dakika beklenir?
A) 15–30 dakika
B) 10–12 dakika
C) 9–10 dakika
D) 3–5 dakika
E) 1–2 dakika
10. Aşağıdakilerden hangisi, yayma preparat boyandıktan sonra ileri derecede mavi renk alma sebebi değildir?
B) Boyanan preparatın yetersiz yıkanması.
C) Boya konulduktan sonra normal süreden fazla bekletilmesi.
D) Yayma preparatın kalın yayılması.
E) Boyama süresinin normalden kısa olması.
F) Hepsi .

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ 1'İN CEVAP ANAHTARI

1	C
2	A
3	D
4	E
5	E

ÖĞRENME FAALİYETİ 2'NİN CEVAP ANAHTARI

1	D
2	D
3	A
4	D
5	E

MODÜL DEĞERLENDİRME CEVAP ANAHTARI

1	Formül lökosit (Periferik yayma)
2	Rulo, Kümeleşme
3	Y
4	Y
5	D
6	C
7	A
8	B
9	A
10	D

ÖNERİLEN KAYNAKLAR

- AÇIKGÖZ Sebahat, **Klinik Hematoloji X.Sınıf**, Türk Sağlık Eğitimi Vakfı, Ankara, 2001.
- MEHMETOĞLU İdris, **Klinik Biyokimya XI. Sınıf**, Türk Sağlık Eğitimi Vakfı, Ankara, 2002.
- MÜFTÜOĞLU Ekrem, **Klinik Hematoloji ve İmmünoloji**, 2. Baskı, Diyarbakır, 1987.
- MÜFTÜOĞLU Ekrem, **Klinik Hematoloji**, Şahin Yayıncılık ve Dağıtım, 3. Baskı, Diyarbakır, 1995.
- ÖZGÜR Nilgün, **Klinik Hematoloji XI. Sınıf**, Türk Sağlık Eğitimi Vakfı, Ankara, 2001.
- TANYER Gülten, **Hematoloji ve Laboratuvar**, Ayyıldız Matbaası, Ankara, 1985.

KAYNAKÇA

- AÇIKGÖZ Sebahat, **Klinik Hematoloji**, X.Sınıf, Türk Sağlık Eğitimi Vakfı, Ankara, 2001.
- AZAK Muallâ, **Hematoloji**, Hatiboğlu Yayınları Özkan Matbaası Ankara, 1997.
- BERK Önder, **Atlaslı Kan Hastalıkları Tanı ve Tedavi ilkeleri**, Hekimler Birliği Vakfı Türkiye Klinikleri Yayınevi, 1.Baskı, Ankara, 1989.
- MÜFTÜOĞLU Ekrem, **Klinik Hematoloji ve immünoloji**, 2. Baskı, Diyarbakır, 1987.
- ÖZGÜR Nilgün, **Klinik Hematoloji XI. Sınıf**, Türk Sağlık Eğitimi Vakfı, Ankara, 2001.
- TANYER Gülten, **Hematoloji ve Laboratuvar**, Ayyıldız Matbaası, Ankara, 1985.