

ZIEHL-NEELSEN BOYAMA

- *Mycobacterium* spp. gibi asidorezistans bakterileri boyamak için kullanılan bir boyama yöntemidir.
- *Mycobacterium* spp. hücre duvarı, diğer bakterilerden farklı olarak kalın bir balmumu tabakasına sahiptir.
- Bu tabaka, bakterileri asit-alkole dirençli kılar ve normal boyalar ile boyanmasını engeller.
- Boyanın içerisine fenol eklenir ve alttan hafifçe ısıtılarak balmumu benzeri lipit tabakası yumuşatılır.
- Böylece boyayı kolayca alan lipit tabakası asit-alkol ile dekolare olmaz ve boyayı bırakmaz.

# UYGULANIŐI

1. Preparat hazırlanır, kurutulur, tespit edilir.
2. **Karbol fuksin** ile alttan ısıtılarak 4-5 dk. boyanır. Bu işlemin uzun tutulması bakterilerin kömürleşmesine sebep olur.
3. Hafif akan su ile yıkanır.
4. **Asit-alkol** ile dekolare edilir (%95 alkol, %5 HCl).
5. Hafif akan su ile yıkanır.
6. **Metilen mavisi** ile 10-15 sn boyanır.
7. Hafif akan su ile yıkanır.
8. Kurutulur, immersiyon objektifi ile incelenir.

# SONUÇ

- *Mycobacterium* spp. kırmızı-pembe çomak şeklinde görülür. Bu bakteriler asidorezistans özelliktedir ve asit-alkolde dekolare olmazlar.
- Asidorezistans olmayan bakteriler ve doku parçaları ise asit-alkolde dekolare olurlar ve mavi renkte boyanırlar.

# GIEMSA (KAPSÜL) BOYAMA

- Anthrax ve *Pasteurella* etkenlerinin boyanmasında kullanılır.
- *Bacillus anthracis* etkenleri vücut içinde kapsül oluştururken vücut dışında sporlu olarak bulunurlar.
- Kapsül boyama için doku ve organlardan sürme preparatlar hazırlanır.
- Giemsa boya solüsyonu kullanılır (azur, eosin ve metilen mavisinin uygun miktarlarda karıştırılması ile elde edilmiştir).

# GIEMSA SOLUSYONU

- 1 preparat için, 5cc.distile su + Her cc distile su için 1 damla (0.05cc) giemsa stok solüsyonu eklenir.
- Distile suyun kaynatılarak oksijeni çıkartılır. Çünkü oksijenin bu boyamada reaksiyona girerek boyanın etkisini azaltma özelliği vardır.
- Kaynatıldıktan sonra musluk suyu altında soğutulur.

# UYGULANIŐI

- Sürme preparat hazırlanır, kurutulur.
- **Metil alkol** ile kimyasal tespit edilir.
- Hafif akan su ile yıkanır.
- **Giemsa solusyonu** ile boyanır (30-45-dk).
- Hafif akan su ile yıkanır.
- Kurutulur immersiyon objektifi ile incelenir.



# SONUÇ

- Etkenler mavi çomak olarak görülür.
- Kapsül ise kırmızı renkte görülür.

**SPOR BOYAMA**

- *Bacillus* ve *Clostridium* cinslerine ait türler endospor oluşturma yeteneğine sahiptir.
- Bu endosporlar bakterinin vegetatif formuna oranla yüksek ısı ve dezenfektanlar gibi fiziksel ve kimyasal yöntemlere karşı daha dirençlidir.
- Bu direnci sağlayan sporun dışındaki koruyucu tabaka normal boyama yöntemleri ile boyanmayı engeller.
- Spor oluşturan bakterilerin vegetatif formları normal boyalar ile boyanabilir fakat spor formları boyanamaz. Bu nedenle özel boyama yöntemleri geliştirilmiştir.

# UYGULANIŐI

- Preparat hazırlanır, kurutulur tespit edilir.
- %5'lik **MalaŐit yeŐili** ile 5 dk. alttan ısıtılarak hafifçe boyanır.
- Hafif akan su ile yıkanır.
- %0.5'lik **Safranin** ile 30 sn. boyanır.
- Hafif akan su ile yıkanır.
- Kurutulur, immersiyon objektifte incelenir.

# SONUÇ

- Sporlar yeşil, basiller ise kırmızı renkte boyanır.