في المختبرات الصغيرة ومختبرات أبحاث الدم التي تستخدم عينات قليلة تتم الخطوات السابقة بشكل يدوي بينما في مختبرات الأمر اض التي يتم فيها أجراء فحوصات روتينية لعينات كثيرة تتم باستخدام أجهزة حديثه منها جهاز معاملة الأنسجة الأوتوماتيكي

(Tissue Auto processor)

مميزات تقنية شمع البرافين:

1–هذه التقنية تأخذ وقت قصير للإعداد(ليس أكثر من يومين).

2– تعطي سلسلة متتابعة من القطاعات تسمى أشرطةRibbons متصلة مع بعضها البعض وهذه الأشرطة مهمة للعمل البحثي.

3–تعطي قطاعات رقيقة جداً.

4– قطاعات هذه الطريقة سهلة الصبغ.

عيوبها:

– هذه الطريقة تستخدم المثبتات والفرن والتي قد تضر بالنسيج وبتفاصيل تركيب الخلايا.

– استخدام المثبتات قد يذيب المحتوى الدهني للنسيج خلال التحضير لذا لا يمكن دراسة الدهون بهذه الطريقة.

– هذه الطريقة ليست مثالية في كيمياء الأنسجة لأن الحرارة تحطم الأنزيمات مثلاً.

ثانياً: تقنية السللويدين The Celloidin Technique

تشبه الطريقة السابقة طريقة شمع البرافين إلا أنه في هذه الطريقة يتم استبدال البرافين بالسللويدين. حيث أن بعض العينات مثل عينات العظم والعين يفضل أن يعمل فيها قوالب من السللويدين المعروفة بمادة النيتروسيليلوز(nitrocellulose) وقبل الطمر يجب أن توضع العينة في خليط من ثنائي الأيثر والكحول الإثيلي بنسب متساوية ثم تنقل العينة لمدة أسبوع في كل من محاليل السللويدين(2%،4%،8%) المذاب في خليط ثنائي إثيل الإيثر والكحول المطلق على أن توضع العينة داخل المحاليل في وعاء محكم الإغلاق، ويجب أن يكون حجم المحلول على الأقل 10 أضعاف حجم العينة وأن يكون عمقه على الأقل 3 أضعاف أطول طرف للعينة. تنقل بعد ذلك العينة إلى محلول السللويدين(8%) وتترك فترة حتى تزول الفقاعات الهوائية بعدها ينفخ على العينة بشكل جزئي وتترك تحت شافطة أبخرة (Fume hood) لمدة 5 – 10 أيام حتى يسمح للتبخر إلى نصف المحلول تقريباً، بعد ذلك يعمل قالب من العينة

يحيط بها السللويدين وتنقل إلى وعاء تجفيف(Desiccator) بداخلة كلوروفورم حتى يعمل على تصليب القالب، بغد ذلك ترفع العينة من وعاء التجفيف وتلصق على حامل خشبي باستخدام سللويدين(4%) ويحفظ القالب داخل كحول إثيلي(70%) لحين البدء في عمل قطاعات منة.

ويمكن أن يستخدم نوع خاص من السللويدين ذو لزوجة أقل(Low Viscosity Nitrocellulose) ويرمز له بالرمز(L.V.N) ويستخدم في بعض الحالات الخاصة لعينات الجهاز العصبي.وتعامل العينة بنفس الطريقة باستخدام محاليل من نفس المادة بتركيز(02% ,01% ,5%) مذابة بخليط من ثنائي الأيثر والكحول الإثيلي المطلق بنسب متساوية مضافاً إليها 5.0% زيت الخروع(Castor Oil).

مميزاتها:

- تعطي مقاطع كاملة الوضوح يمكن رؤية تفاصيل الأنسجة.
- عدم استخدام الحرارة فيها يحفظ التراكيب النسيجية كما هي.
- ممكن استخدام قطع كبيرة من الأنسجة مثل استخدام العين كاملةً عيوبها:
- تحتاج إلى وقت طو يل (شهر تقريباً) لإعداد القطاع.
- لا يمكن الحصول على أشرطة من القطاعات لأنها سميكة ومنفصلة عن بعضها البعض.
- قطاع السللويدين جداً صعب في القطع والصبغ.

ثالثاً:تقنية التجميد Frozen Method

في هذه الطريقة النسيج الطري أو المثبت يجمد ويصلب ويعمل منه قطاعات بالميكر وتوم الثلجي أو ما يسمى بالكريوستات (cryostat).

مميزاتها:

طريقة سريعة وبسيطة تستخدم عادة خلال العمليات الجراحية التي تطلب تشخيص سريعا للسرطانات.

المواد الكيميائية الموجودة في النسيج لا تتغير بسبب عدم استخدام الحرارة.

تستخدم في كيمياء الأنسجة لدراسة فعالية الأنزيمات الخلوية والكشف عن الدهون وتفاعل الأجسام المضادة مع الأنتيجينات .

عيوبها:

- لا تعطي سلسله من المقاطع.
- تعطي قطاعات سميك بسب صعوبة القطع و التصبيغ.

عمليه نزع الكالسيوم من النسيج Decalcification :

من المعلوم أن وجود أملاح الكالسيوم في الأنسجة تسبب تصلباً للنسيج

يتعذر معه تقطيع هذه الأنسجة بواسطة الميكروتوم لذا يجب إزالة هذه الأملاح لنتمكن من الحصول على عينة نسيجية لينة يمكن تقطيعها دون إحداث ثلمات أو أضرار في سكينة القطع.

تعريف عملية نزع الكلسيوم:هي الطريقة التي نقوم بواسطتها بإزالة ترسبات أملاح الكالسيوم من الأنسجة الغنية بها مثل العظام والأسنان.

وتتم العملية بوضع العينة في محلول نازع للكالسيوم مثل: محلول بريني، محلول حمض الفورميك المنظم، محلول جودنج و ستيورت، محلول شميدت، محلول ليلي.

التحضيرات الا مقطعية

1. شريحة مجهر ية لسحبة من دم الإنسان

الأدوات والمواد المستخدمة:

مجهر مركب – شرائح وأغطية – أدوات تشريح صبغة اليود

– مسحة طبية – قطن – ماء مقطر إبرة وخز – كحول –

لزق جروح – دم إنسان حمض خليك صبغة رأيت أو لشما

ن

الأهداف: يتوقع منك عزيزي الطالب نتيجة قيامك بالنشاط المرافق بلوغ الأهداف التالية:

1-أن تعد شريحة مجهرية لسحبة من دم الإنسان بشكل سليم للفحص .

2-أن تكون قادراً على التعامل مع المجهر المركب بشكل سليم .

3-أن تحدد أوجه الشبه والاختلاف بين الخلايا الدم الحمراء والبيضاء .

خطوات العمل :-

1. **نظف إصبع الإبهام بواسطة المسحة الطبية أو قطن مبلل بالكحول.**

أثقب الإبهام بإبرة الوخز ثم ضع الدم على طرف شريحة نظيفة.

2. **بعد الحصول على الدم نظف الإبهام بالكحول أو المسحة الطبية مرة أخرى وضع لز قة على الجرح .**
3. **ضع شريحة ثانية فوقها بحيث يكون أحد أطرافها مائلاً على الشريحة الأولى بزاوية 30 درجة مئوية.**
4. **بعد انتشار الدم على الشريحة العليا ادفع الشريحة بسرعة معتدلة في اتجاه الطرف الأخر على الشريحة الأولى.لماذا؟**
5. **دع الشريحة تجف في الهواء**
6. **. اصبغ الشريحة بصبغة رأيت أو صبغة لشما ن أو يود أو أي صبغة أخرى لفترة دقيقتين تقريباً .**
7. **أغسل الشريحة بالماء المقطر أكثر من مرة . لماذا ؟**

.....

8. **أترك الشريحة لتجف .**
9. **ضع الشريحة تحت المجهر المركب لفحصها ولاحظ:**

شكل خلايا الدم الحمراء..... .

شكل خلايا الدم البيضاء..... .

النواة ..... .

10. **ملاحظة خلايا الدم البيضاء بسهولة أكبر أضف قطرة من حمض الخليك عند طرف غطاء الشريحة.**

خلايا الدم البيضاء والحمراء