المحاضرة الخامسة

عملية الغسل Washing ، عملية نزع الماء (الانكاز) : Dehydration ، عملية الترويق:Clearing

المصادر المعتمدة في اعداد المحاضرة

1. الحاج، حميد احمد (2015) التحضيرات المجهرية الضوئية النظرية والتطبيق . الجامعة الاردنية . دار الميسرة للطباعة والنشر . ط/3 ، المجلد الاول .
2. البنهاوي، محمود أحمد ؛ الجنزوري، منير علي. (2013) لتقنية المجهرية : إعداد التحضيرات الميكروسكوبية : أنسجة-خلية-كيمياء أنسجة . القاهرة : دار المعارف، الطبعة : ط. ، المجلد الاول .
3. عبده ، سوزان بكر .(2016) علم الانسجة والخلايا . مركز النشر العامي بجامعة الملك عبدالعزيز بجدة / المملكة العربية السعودية . 978 9960 06 656 1 / ISBN.
4. يوسف ، وليد حميد ؛ الحمود، محمد حسن . (2004) تجارب علمية في الأحياء / دار الاهلية للنشر والتوزيع.
5. شاهين ، جميل نعمان (2006) . سلسلة المختبرات العلمية دليل العمل في مختبر الأحياء . عالة الثقافة – عمان / الطبعة: الاولى

ثالثاً)) عملية الغسل Washing

بالرغم من المثبت يستخدم لحفظ النماذج الا انه يجب غسل العينة بعد التثبيت لإزالة ما تبقى من أثر المثبت على العينة وذلك لمنع الافراط في التثبيت وللتخلص مما تتركه عملية التثبيت من مواد غير مرغوب فيها كالبلورات وغيرها ، حيث ان بقاء هذه المواد داخل النموذج يؤثر على سير خطوات العمل اللاحقة وخاصة عملية التصبيغ Staining .

تغسل العينة باستخدام ماء الحنفية الجاري او الماء المقطر اذا كان المثبت المستخدم مائياً ، وتغسل العينة بالكحول وبنفس التركيز اذا كان المثبت كحولياً .

مثلاً: تغسل العينات المثبتة في زنكر بالكحول 96 % مشبع باليود ومدة الغسيل تتروح من 5- 8 ساعات ، العينات المثبتة في الفورمالين تغسل بماء الصنبور الجاري لمدة 24 ساعة.

رابعاً)) عملية نزع الماء (الانكماز) Dehydration:

وهي الطريقة التي يتم بواسطتها إحلال مادة محل الماء الموجود في النسيج هذه المادة تذوب فيها المحاليل والمواد المستعملة في الخطوات القادمة مع عدم تشويه النسيج وتتم هذه العملية بتمرير العينة في سلسلة متدرجة الارتفاع في التركيز من الكحول الإثيلي Ethanol (ethyl alcohol) لمنع انكماش الأنسجة في حالة لو وضعت في كحول مطلق مباشرة ويفضل الكحول لأنه يمتزج بسهوله مع الماء ومع مادة الزايلول (الزايلين Xylene) المروقة والتي بدورها تمتزج جيدا مع مادة الطمر البرافينية.

لا يمتزج الماء مع شمع البرافين لذلك يجب التخلص من الماء الموجود في النسيج الخلوي حتى تسهل عملية نفاذ البرافين المصهور إلى داخل الأنسجة وتتم عملية نزع الماء بتمرير العينة على سلسلة متدرجة الارتفاع في التركيز من محاليل الكحول الايثيلي (50% ،70% ، 90% ، 100%) وتتروح المدة اللازمة لترك العينة في كل خطوة من خطوات نزع الماء في محاليل الكحول المختلفة التركيز من 30 دقيقة إلى ثلاث ساعات .

دكتور هيثم الكبيسي

خامساً)) عملية الترويق Clearing:

هي العملية التي بواسطتها يتم إحلال ماده محل مادة نزع الماء حيث تقوم هذه العملية بالسماح لمادة شمع البرافين بالدخول إلى الأنسجة في الخطوة اللاحقة لأن الكحول المستخدم في نزع الماء لا يمتزج مع شمع البرافين لذا تستخدم ماده مروقه تذوب في الكحول وشمع البرافين وكذلك تجعل النسيج شفافا. من أمثلة المواد المروقه (الزايلول – الكلورفورم – تولوين – بنزين –زيت خشب الأرز) وعند استخدام الزايلول والتولوين يحدث أحيانا أن يتعكر لون محلول مادة الترويق وهذا دليل على عدم اكتمال نزع الماء من نسيج العينة في هذه الحالة يجب إرجاع العينة إلى سلسلة الكحولات للتأكد من عملية نزع الماء بشكل تام أما المدة الكافية لترك العينة في المحلول المروق فهذا يعتمد على نوع وحجم العينة فكلما زاد حجم العينة كلما زادت مدة الترويق.

لا يمتزج الكحول مع شمع البرافين لذا يعتبر محلول الزيلول من أنسب المحاليل المروقة لسهولة امتزاجه مع البرافين والكحول وهناك مواد يمكن استخدامها كمروقات مثل التولوين والبنزين والكلوروفورم ولكنها سريعة التطاير.

دكتور هيثم الكبيسي

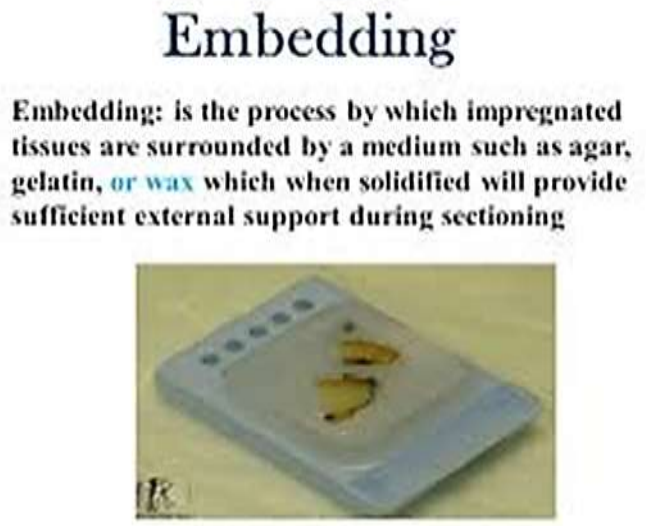
سادساً)) عملية التشرب أو التخلل Impregnation or Infiltration

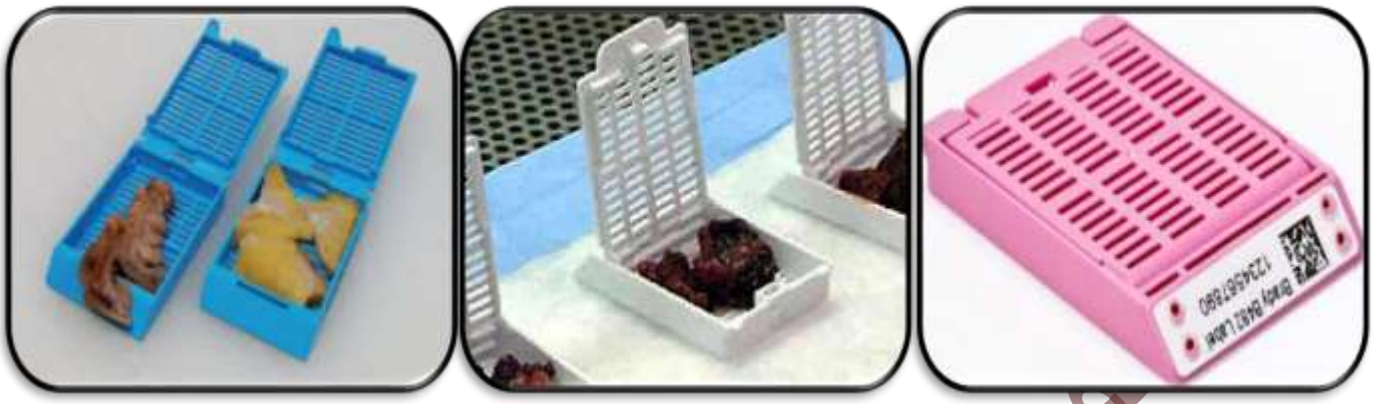
عبارة عن إحلال كامل للمادة المستخدمة في التشريب مكان المادة المروقة، ويعتبر شمع البرافين من أشهر المواد المستخدمة في تشريب النسيج حيث أنه يتخلل العينة بسرعة دون إحداث ضرر بتركيبها النسيجي، كما أنه يكسبها دعامة قوية لتهيئتها للقطع بالميكروتوم، ويساعد على حفظها في الظروف العادية لفترة طويلة دون أي أذى. وتتم العملية بتمرير العينة في مزيج متساوي من الشمع والمادة المروقة (1:1) ثم تنقل العينة إلى شمع البرافين المطلق المنصهر داخل الفرن وتكرر هذه العملية لعدة مرات (2-3 مرات) وكل مرة لمدة نصف ساعة، كما تعتمد عدد مرات تغيير الشمع حسب نوع العينة بحيث تقل كلما كانت العينة رخوة وتزداد كلما كانت العينة صلبة.

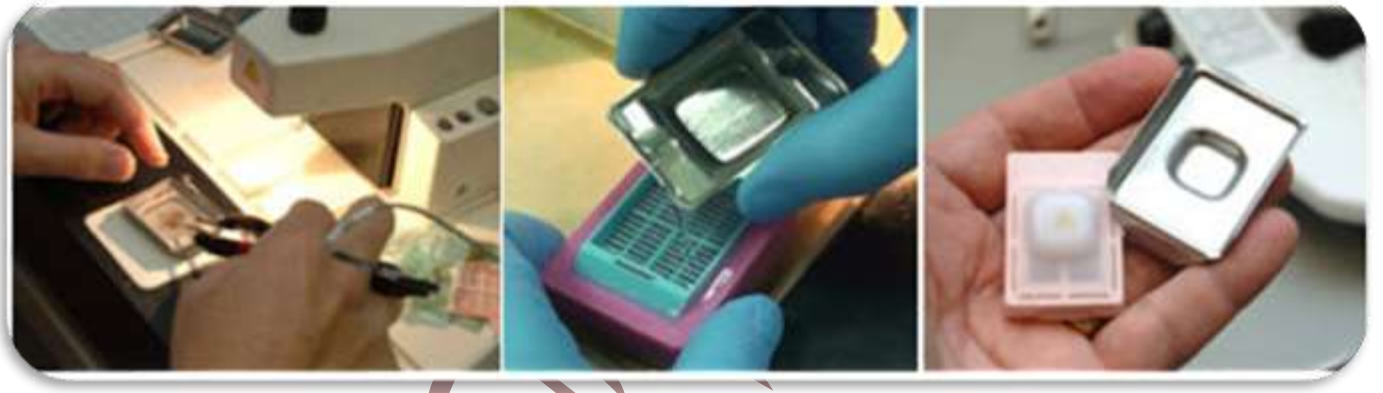
من الامثلة على اوساط التشرب شمع البرافين Paraffin wax بينما تستعمل اللدائن البلاستيكية مثل Araldite في عملية التشرب للنماذج المحضرة للفحص بالمجهر الالكتروني .

سابعاً)) عملية الطمر Embedding

وهي عملية الغرض منها عمل قالب من العينة بحيث تحيط بها المادة الطامرة وتدعمها لتتكون طبقة متماسكة من كليهما لتكون جاهزة للتقطيع بثبات اثناء مرورها على سكينة التقطيع وفي الغالب تكون المواد المستخدمة للطمر هي نفس المادة المستخدمة في عملية التشرب . توضع العينة باستخدام ملقط و توضع العينة بالاتجاه المرغوب به، بعدها يترك القالب على سطح ثلجي فترة قصيرة ليبرد سطحه استعداداً للتقطيع .







Remove tissue from cassette

Fill mould with wax and orientate tissue