التقنيات النسيجية

Histological techniques

كلية التـربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة

المستوى الاول (A) – المحاضرة السادسة

2020-2019

د. هبة عباس جاسم

المصادر:

1- المطار ، عدنان عبد الامير، العلاف، سهيلة محمود و المختار، كواكب عبد القادر (1982) التحضيرات المجهرية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – الجمهورية العراقية.

2- الرطوط، اسامة خالد؛ عثمان، جمال محمد؛ الطردة، محمود محمد و أبو دية، محمد (2009) اساسيات علم التحضير النسيجي. دار الثقافة- المملكة الاردنية.

3- شاهين، جميل نعمان (2006) دليل العمل في مختبر الاحياء. دار عالم الثقافة، المملكة الاردنية.

4- المشني، يوسف حسني و فطاير، عبد الرحمن (2000) الكفايات العملية لفنيو المختبرات الطبية. دار المستقبل- المملكة الاردنية.

5- عبد القادر ، عمر (2012) التحضيرات المجهرية.

https://fac.ksu.edu.sa/sites/default/files/lthdyrt_lmjhry_ljz_lthny.pdf

الطرق العامة في التحضيرات المجهرية

General methods in microscopic technique

طريقة التحضيرات المقطعية Sectioning methods

الخطوات المتبعة لعمل مقاطع نسيجية محملة على شرائح زجاجية:

ثالثاً: عملية الغسل Washing

بالرغم من ان المثبت يستخدم لحفظ النماذج الا انه يجب غسل العينة بعد التثبيت لازالة ما تبقى من اثر 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 الالحقة وخاصة عملية التصبيغ Staining.

تغسل العينة باستخدام ماء الحنفية الجاري او الماء المقطر اذا كان المثبت المستخدم مائيا، وتغسل العينة بالكحول وبنفس التركيز اذا كان المثبت كحوليا. مثلا تغسل العينات المثبتة في محلول زنكر بالكحول 96%، مشبع باليود ومدة الغسيل تتراوح من 5-8 ساعات، العينات المثبتة في الفورمالين تغسل بماء الصنبور الجاري لمدة 24 ساعة.

رابعاً: عملية نزع الماء (الانكاز)Dehydration

وهي الطريقة التي يتم بواسطتها احلال مادة محل الماء الموجودة 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 الاثيلي Ethanol لمنع انكماش الانسجة في حالة لو وضعت في كحول مطلق مباشرة ويفضل الكحول لانه يمتزج بسهولة مع الماء ومع مادة الزايلول 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 البارفين المصهور الى داخل الانسجة وتتم عملية نزع الماء بتمرير العينة على سلسلة متدرجة الارتفاع في التركيز من محاليل كحول الاثيلي (50 %، 70%، 90%، 100%) وتتراوح المدة اللازمة لترك العينة في كل خطوة من خطوات نزع الماء في محاليل الكحول المختلفة التركيز من 30 دقيقة الى ثلاثة ساعات.

خامساً: عملية الترويق Clearing

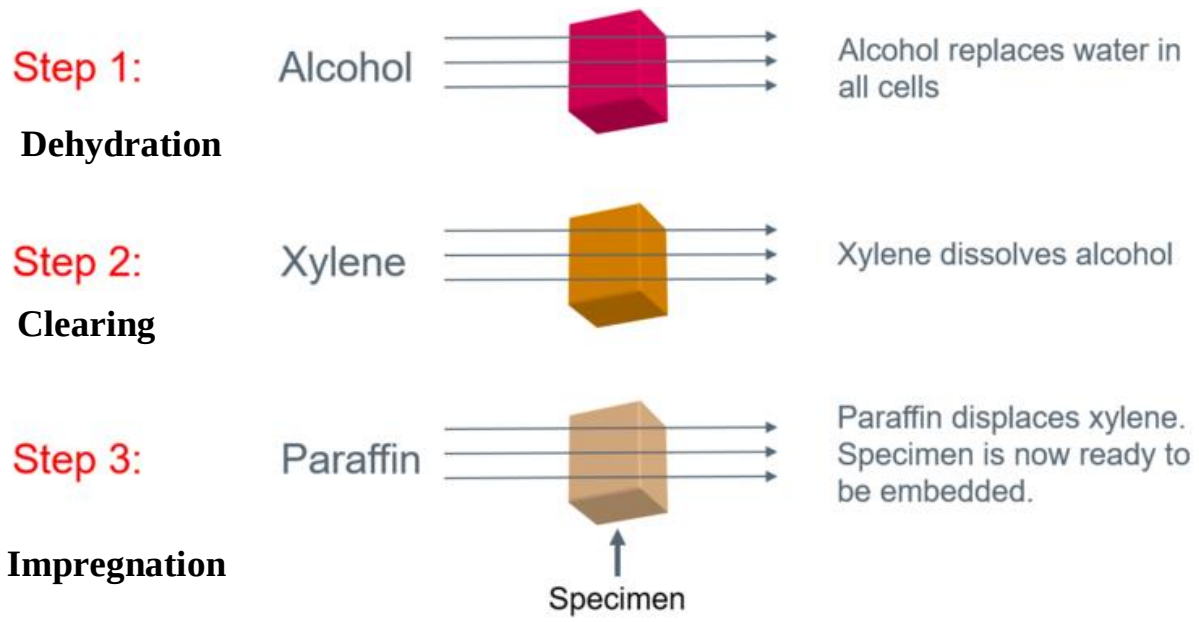
هي العملية التي بواسطتها يتم احلال مادة محل مادة نزع الماء حيث تقوم هذه العملية بالسماح لمادة شمع البارافين بالدخول الى الانسجة في الخطوة اللاحقة لان الكحول المستخدم في نزع الماء لا يمتزج مع شمع البرافين لذا تستخدم مادة مروقة تذوب في الكحول وشمع البرافين وكذلك تجعل النسيج شفافا. من امثلة المواد المروقة (الزايلول- الكلوروفورم- تولوين – بنزين – زيت خشب الارز)، وعند استخدام الزايلول والتلوين يحدث احيانا ان يتعكر لون محلول مادة الترويق وهذا دليل على عدم اكتمال نزع الماء من نسيج العينة في هذه الحالة يجب ارجاع العينة الى سلسلة الكحولات للتاكد من عملية نزع الماء بشكل تام اما 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 انسب المحاليل المروقة لسهولة امتزاجه مع البرافين والكحول وهناك مواد يمكن استخدامها كمروقات مثل التولوين والبنزين والكلوروفورم ولكنها سريعة التطاير.

سادساً: عملية التشرب او التخلل Impregnation or Infiltration

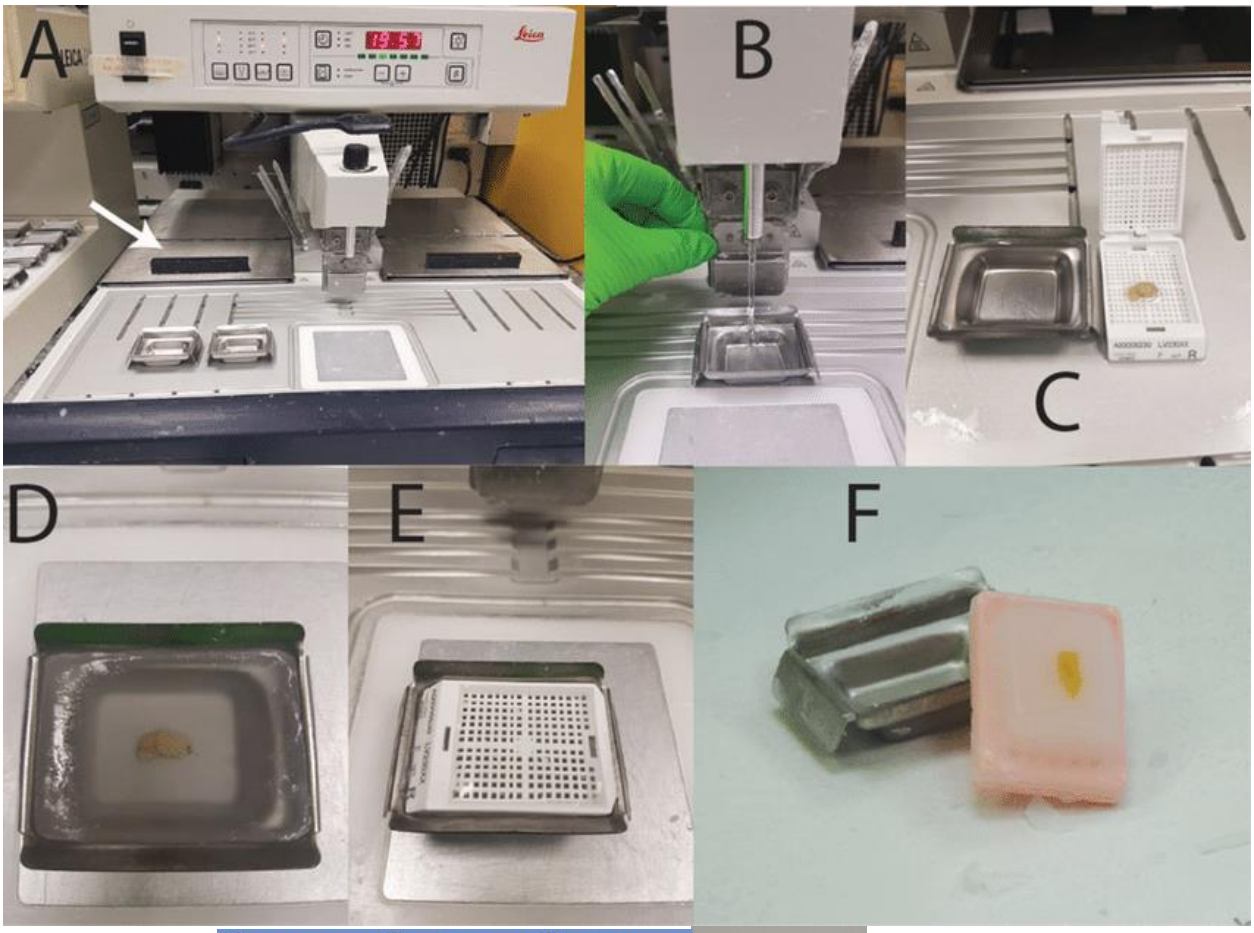
عبارة عن احلال كامل للمادة المستخدمة في التشريب مكان المادة المروقة، ويعتبر شمع البرافين من اشهر المواد المستخدمة في تشريب النسيج حيث انه يتخلل العينة بسرعة دون احداث ضرر بتركيبها النسيجي، كما انه يكسب دعامة قوية لتهيئتها للقطع بالميكروتوم، ويساعد على حفظها في الظروف العدية لفترة طويلة دون اي اذى . وتتم العملية بتمرير العينة في مزيج متساوي من الشمع والمادة المروقة (1:1) ثم تنقل العينة الى شمع البرافين المطلق المنصهر داخل الفرن وتكرر هذه العملية لعدة مرات (2-3 مرات) وكل مرة لمدة نصف

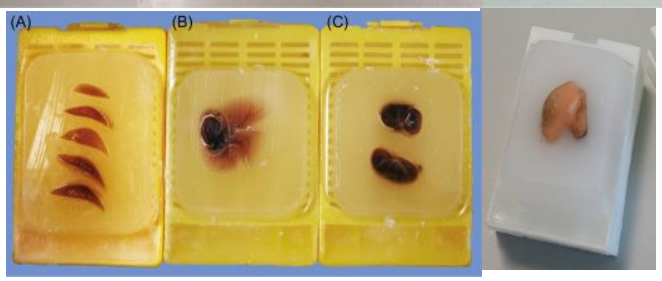
ساعة ، كما تعتمد عدد مرات تغيير الشمع حسب نوع العينة بحيث تقل كلما كانت العينة رخوة وتزداد كلما كانت العينة صلبة. من الامثلة على اوساط التشرب هو شمع البرافين Paraffin wax بينما تستعمل اللدائن البلاستيكية مثل Araldite في عملية التشرب للنماذج المحضرة للفحص بالمجهر الالكتروني.



سابعاً: عملية الطمر Embedding

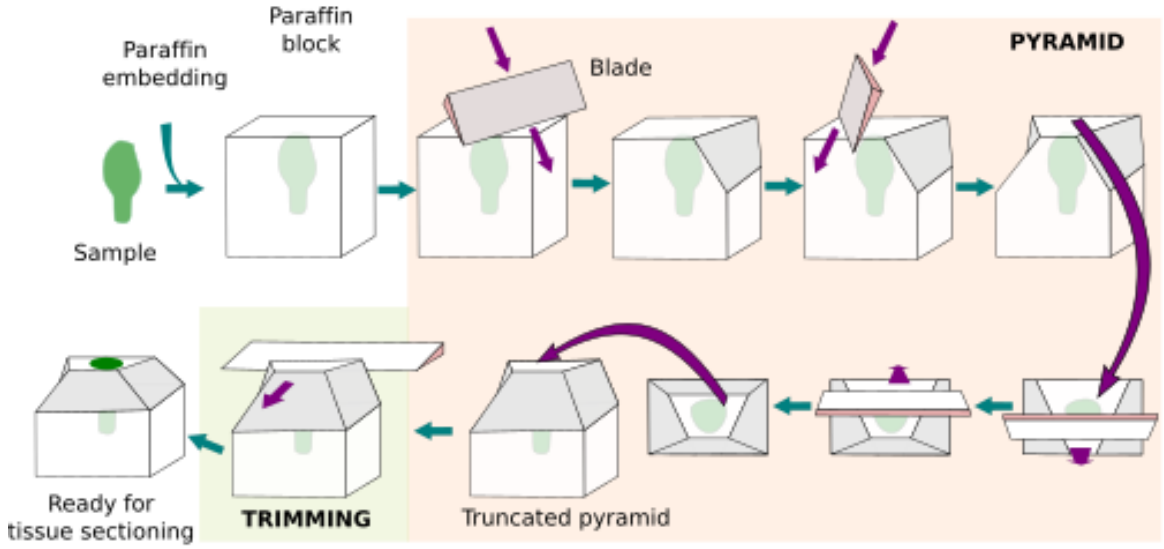
تعتبر عملية الطمر اخر العمليات التي تجري على النسيج قبل تقطيعه الى شرائح نسيجية رقيقة ، وتعرف هذه العملية بانها تهيئة النسيج لعملية التقطيع، والغرض منها عمل قالب من العينة بحيث تحيط بها المادة الطامرة وتدعمها لتتكون طبقة متماسكة من كليهما لتكون جاهزة للتقطيع بثبات اثناء مرورها على سكينة التقطيع وفي الغالب تكون المواد المستخدمة للطمر هي نفس المادة المستخدمة في عملية التشرب. توضع العينة باستخدام ملقط وتوضع العينة بالاتجاه المرغوب به، بعدها يترك القالب على سطح ثلجي فترة قصيرة ليبرد سطحه استعدادا للتقطيع.

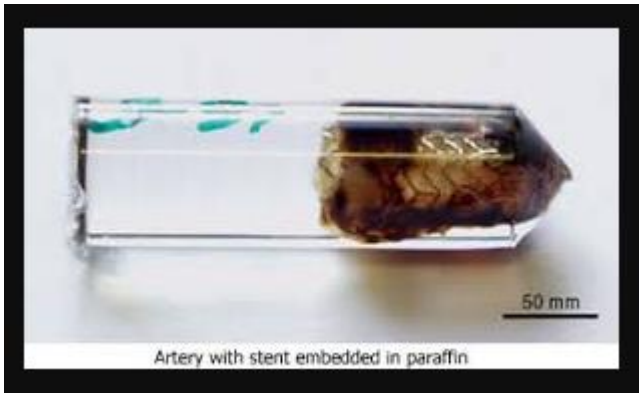

A
B
C
D
E
F


(A)
(B)
(C)

ثامناً : عملية التشذيب Trimming

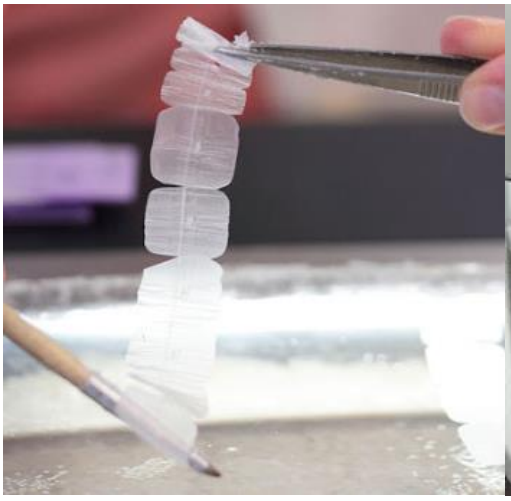
بعد تحضير القوالب الشمعية يستحسن تشذيبها بشفرة حادة حتى تصبح العينة في وضع مناسب للتقطيع بحيث تصبح اطرافها متوازية ويمكن ان تنطبق على حافة سكين الميكروتوم.

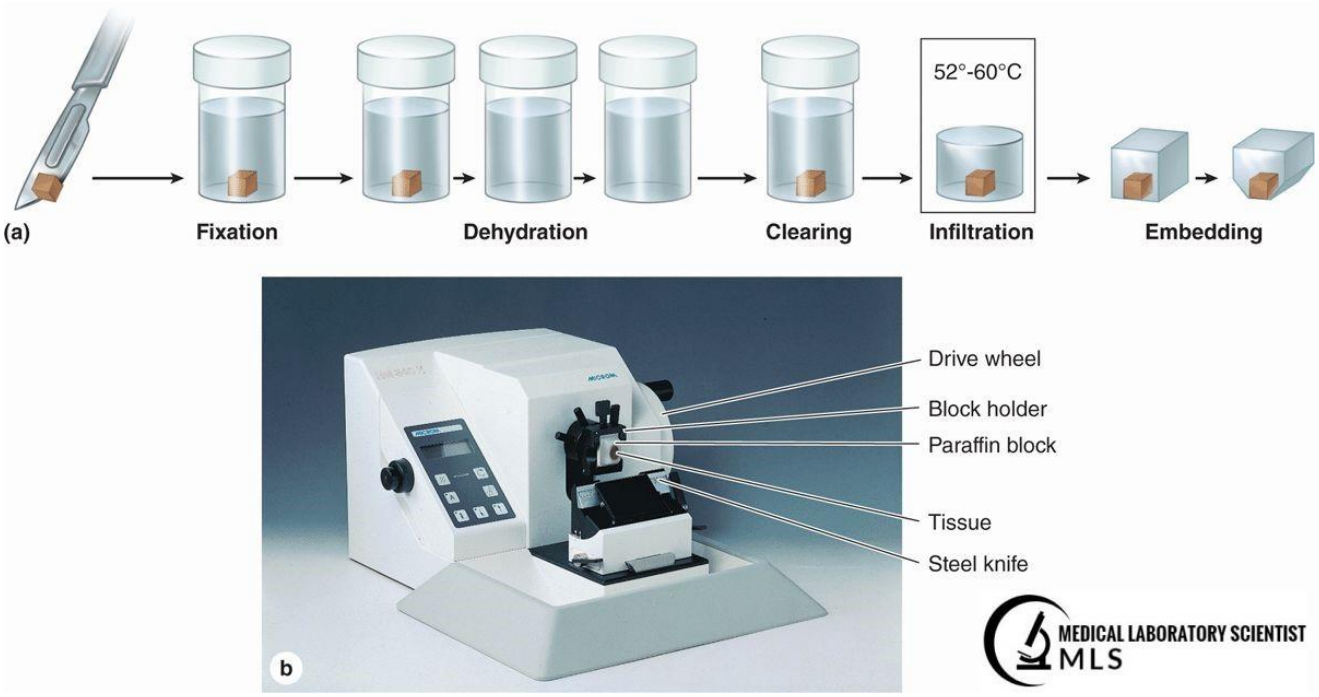




تاسعا: تقطيع العينة Sectioning

تثبيت العينة على حامل العينة Specimen holder في المكروتوم كما يجب ان يزود جهاز القطع بسكين حادة جدا و يحدد سمك القطاع المرغوب فيه (3-7 ميكرون) للبرافين وبسمك (10-15 ميكرون) للسلودين (تستعمل سكاكين زجاجية glass knives لقطع مقاطع المجهر الالكتروني وتحمل على مشبك نحاسي grid، القطاعات الجيدة عادة تكون على شكل اشرطة Ribbons او سلسلة من القطاعات ويفضل ان توضع هذه الاشرطة على صفيحة سوداء حتى يسهل تمييز القطاعات واخذ المناسب منها لوضعه على الشريحة الزجاجية.





خطوات تحضير العينة النسيجية