جامعة حماه
كلية الطب البيطري
قسم التشريح المرضي

مادة علم الأمراض العام
السنة الثالثة
الفصل الدراسي الأول ٢٠٢١-٢٠٢٢

# المدخل إلى التشخيص والدراسات المرضية

الدكتور واصف سلمان الوسوف

المحاضرة الأولى

## علم الأمراض (التشريح المرضي) Pathology:

- يعرف علم الأمراض ببساطة بأنه العلم الذي يدرس المرض.

فهو العلم الذي يدرس الحالة المرضية التي يحدثها مسبب مرضي ما وفق التسلسل الزمني للحوادث المرضية (الآلية الإمراضية) ؛ وبالنتيجة يمكن وضع التشخيص والعلاج والوقاية.

- يرتبط علم الأمراض بمجموعة من العلوم كعلم النسج والتشريح الطبيعي والفزيولوجيا وعلم المسببات المرضية...
- وهو علم تجريبي أيضاً ليتم الفهم الشامل للآلية الإمراضية من خلال التجارب العلمية واستخدام التقنيات المختلفة حيث يتم فهم أعمق للتفاعل بين العضوية والمسبب المرضي وبالتالي المساعدة في تطوير العلاج والوقاية والذي هو الهدف الأساسي للدراسة المرضية عموماً.

ومصطلح Histology (علم النسج) ذو أصل لاتيني مكون من كلمتين الأولى -Histo وتعني نسيج والثانية Logy وتعني علم.

بينما مصطلح علم الأنسجة المرضي Histopathology والذي يعنى بدراسة التغيرات المرضية في الخلايا والأنسجة يتكون من كلمتين الأولى Histo والثانية Pathology وتعني علم الأمراض.

**يمكن تقسيم علم الأمراض (التشريح المرضي) إلى:**

**١- علم الأمراض العام General Pathology**

**٢- علم الأمراض الجهازي Systemic Pathology**

**٣- علم الأمراض الخاص Special Pathology**

**ويتم في علم الأمراض العام دراسة الاستجابة الأساسية للخلايا والأنسجة للأذى أو هجمات العوامل المرضية بغض النظر عن العضو أو الجهاز أو نوع الحيوان المصاب.**

**ولفهم المبادئ الأساسية للعملية المرضية لا بد للطالب أن يبدأ بدراسة علم الأمراض العام.**

## ما هو المرض Disease؟

هو الحالة التي تضطرب فيها وظيفة عضو من أعضاء الجسم أو عدة أعضاء نتيجة تغيرات نسيجية خلوية أو خارج خلوية ينتج عنها ردة فعل دفاعية من الجسم ضد المسبب المرضي مما يؤدي إلى ظهور تغيرات على الحيوان قد تكون ظاهرة أو غير ظاهرة.



**تحدث مجموعة من التغيرات بتأثير المرض تضم:**

- **تغيرات خلوية**
- **تغيرات وعائية**
- **الالتهاب**
- **ثم العمليات التعويضية مثل تجدد النسيج**
- **يمكن حدوث اضطراب النمو الخلوي وتشكل أورام**

## نـهاية المرض:

**١- الشفاء: هنا يتغلب الجسم على العامل المرضي ويستعيد وظائفه الحيوية**

**٢- الموت: عندما لا يستطيع الجسم التغلب على العامل المرضي يفشل في استعادة الوظائف الحيوية لعضو أو مجموعة من الأعضاء**

## أهمية التشريح المرضي في التشخيص Diagnosis:

يتم وضع التشخيص الأولي بناءً على معطيات التشريح المرضي:

فالتشخيص هو تعبير مختصر عن:

- طبيعة المرض: حاد أو مزمن...
- المسبب
- اسم المرض

تعتمد دقة التشخيص على المؤشرات (الآفات) المتوفرة للدراسة.

## أنماط التشخيص:

### أ- التشخيص العياني (الحقلي) Clinical Diagnosis ويعتمد على:

- تاريخ الحالة المرضية
- الأعراض العيانية
- الفحص الفيزيائي (الجسمي)

وهذا يمكن أن يشير إلى العضو أو الأعضاء المصابة أو يمكن الاشتباه بالمرض ضمن قائمة عديدة من الأمراض

## ب- التشخيص المرضي الاكلينيكي :Clinical Pathologic Diagnosis

**يدرس التغيرات في:**

- **كيمياء سوائل الجسم**
- **التغيرات الدموية**
- **تغيرات وظائف وتركيب الخلايا المجموعة من الحيوان**

## ج- تشخيص الآفات أو التشخيص الشكلي lesion Diagnosis:

يعتمد على دراسة التغيرات أو الآفات المرضية المنتشرة في النسيج ويمكن أن تكون التغيرات عيانية Macroscopicأو مجهرية Microscopic.

- الآفة lesion: هي التبدلات والتغيرات المرضية في عضو ما .

- قد تلاحظ الآفة بالعين المجردة فتدعى الآفة العينية و قد لا تلاحظ بالعين المجردة فتدعى بالآفة المجهرية . ويجب تحديد:

- شدة الآفات وشكلها
- موضعها
- انتشارها
- طبيعتها (التهابية ، ورمية، تنكسية،....)

في بعض الحالات قد تكون التغيرات المرضية (الآفات) نوعية أو مشخصة للمرض

وفي أغلب الحالات تكون التغيرات المرضية غير نوعية لا تخص عامل مرضي محدد لكنها تكون مساعدة في عملية التشخيص.

## التنبؤ Prognosis:

وهو تقييم الحالة المرضية وتوقع إلى ما ستؤول وبالتالي اتخاذ الاجراء المناسب و يعتمد ذلك اعتماداً كلياً على فهم الآلية الامراضية Pathogenesis

يمكن أن تنتهي الحالة المرضية بالموت:

**الموت السريري أو الاكلينيكي Clinical Death:**

هو الحالة التي تتوقف فيها النشاطات الحيوية للأعضاء الهامة مثل الجهاز العصبي المركزي والقلب والرئتين والكلى. ويحدد الموت عملياً بتوقف الدورة الدموية والتنفس لدى العضوية.

وعند عدم امكانية استعادة النشاط الحيوي الطبيعي للأعضاء يحدث **الموت البيولوجي (الحيوي) Biological Death** ويتحول جسم الحيوان إلى جثة.

**يحدث الموت بالطرق التالية:**

- بشكل طبيعي نتيجة الشيخوخة
- نتيجة اصابة مرضية
- الموت القسري نتيجة الحوادث أو القتل أو ذبح الحيوان.....

## التغيرات ما بعد الموت:

**١- برودة الجثة**

**٢-تصلب الجثة أو التصلب الرمي أوالصمل الموتي : هو تقلص بطيء لعضلات الحيوان بعد النفوق، ويبدأ في العضلات بعد النفوق وحسب درجة حرارة الوسط المحيط بساعتين. يزداد الصمل الموتى ليأخذ نهايته العظمى بعد مضي ٢٤- ٤٨ ساعة، ويعود بالتراجع ليزول نهائياً بعد ٤٨ ساعة. يبدأ الصمل الموتى بتقلص عضلات الفك، والوجه والرقبة فالصدر والبطن وأخيراً الأطراف. ثم يزول هذا التقلص بنفس الترتيب الذي بدأ به.**

**٣- إعادة توزع الدم: وعند بداية التغيرات الرمية تنقبض العضلة القلبية ويخرج الدم إلى الأوعية الدموية ثم تعود العضلة القلبية مترهلة مرة أخرى بعد زوال التغيرات الرمية، وتبقى أجواف القلب خاوية من الدم، ولكن وجود الدم المتجلط في التجاويف يشير إلى عدم حدوث التغير الرمي لاعتلال عضلة القلب ذاتها.**

**٤- جفاف الجثة**

**٥- تحلل الجثة**

## دراسة العينات النسيجية بعد الموت أو العينات المأخوذة جراحياً (الخزعات) باستخدام التقنيات النسيجية Histopathology:

تبدأ الأدوات الأساسية لممارسة التشريح المرضي بدءاً من **الطبيب** فيجب أن يمتلك:

- عقلاً استقصائياً منفتحاً
- مهارة ودقة في الملاحظة
- المعرفة اللازمة بمبادئ التشريح المرضي وتقنيات العمل وتحليل النتائج

وفي كثير من الأحيان يمكن أن يوضع تشخيص دقيق اعتماداً على التغيرات المرضية العيانية للجسم ويضاف إلى ذلك دراسة التغيرات النسيجية المجهرية .

## يجب على الطبيب المشرح معرفة التغيرات التشريحية المرضية العيانية والنسيجية

**وذلك اعتماداً على:**

١- معرفة التوضع الطبوغرافي للأعضاء وطبيعتها.
٢ - معرفة التركيب النسيجي للأعضاء
٣- معرفة أسس التقنيات النسيجية
٤- التعرف على بعض جوانب كيمياء الأنسجة
٥- معرفة علم الأمراض العام
٦- معرفة علم الأمراض الجهازي والخاص
٧- معرفة خواص المسببات المرضية

- -أفضل العينات هي التي تؤخذ من نسيج الحيوانات المذبوحة اضطرارياً أو النافقة (بعد النفوق مباشرة ) و ذلك لأنها لم تتعرض للتغيرات الرمية التي حصلت بعد الموت و كذلك من الممكن أخذ العينات عند إجراء العمليات الجراحية .
- العينية : عبارة عن قطعة نسيجية صغيرة الحجم تؤخذ مباشرة من الأعضاء المتغيرة المراد فحصها بعد موت الحيوان أو أثناء إجراء العملية الجراحية .
- الغرض من أخذ العينية : هوالحصول على شرائح نسيجية يمكن فحصها مجهرياً و تحديد نوع الآفة المرضية بدقة للوصول إلى تشخيص الحالة المرضية

تعتمد دراسة علم الأنسجة المرضي على دراسة الشرائح النسيجية باستخدم المجهر الضوئي بشكل كبير حتى الآن؛ ويعتبر فهم معرفة أدوات الدراسة وطرق تحضير الأنسجة عاملاً أساسيا في فهم وتفسير نتائج الدراسة بما يتفق مع الطرق المتبعة.

## توجد عدة طرق لتحضير العينات للفحص المجهري أشهرها :

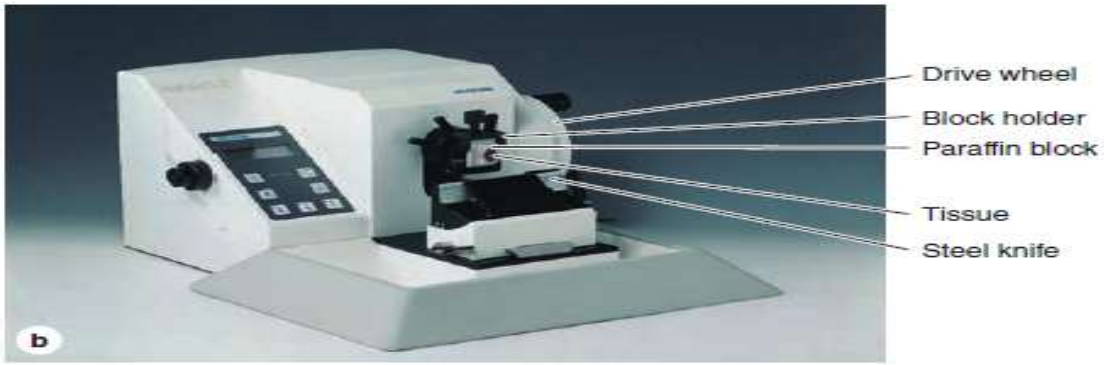
- طريقة الادماج بالبرافين (الشمع).
- وهناك طرق أخرى للتثبيت بالتجميد عن طريق أول أكسيد الكربون و ذلك لدراسة الشحوم في العينة الطازجة . كما يمكن استخدام هذه الطريقة لدراسة الغليكوجين والدراسات الأنزيمية.

## تحضيرالأنسجة للفحص المجهري بطريقة الادماج بالبرافين:

١- جمع العينات واختيارها
٢- التثبيت
٣- الغسيل
٤- الإدماج
٥- التقطيع
٦- التلوين
٧- اللصق
٨- العنونة و كتابة الاسم على المحضر .

# طريقة الادماج بالبرافين



## الجمع Sample collection:

الجمع هو العملية التي من خلالها أخذ قطعة من نسيج الانسان الحي أو الميت. من صفات الجامع الجيد أن يعمل بسرعة و بشكل صحيح في حالة أخذ العينة، كما يجب أن لا يتأخر أبداً بعد الموت في أخذ العينات المطلوبة و ذلك منعاً للتغيرات في الأنسجة، وأن يستخدم معدات نظيفة، سكاكين حادة.

يتم جمع العينات لأغراض التشخيص بعدة وسائل وهي:

أ ـ كشط الأغشية المخاطية (التجويف الفمي – البلعوم – المهبل – تجويف الرحم).

ب ـ أخذ قطعة صغيرة من الأعضاء الداخلية (عقدة لمفاوية ـ كبد ـ طحال ـ كلية ـ نقي العظم).

ج ـ شفط بواسطة أنبوب التنظير ( المجاري التنفسية – الأنبوب الهضمي ).

د ـ يمكن أخذ خزعة صغيرة جداً عن طريق الإبرة الدقيقة Fine needle من بعض الأحشاء الداخلية.

هـ ـ عينات نسيجية بعد الموت، حيث يتم تشريح الجثة وملاحظة التغيرات المرضية العيانية، ثم أخذ عينات من الآفات الملاحظة. وهي ذات أهمية في حالات الطب الشرعي أو في حالة الأمراض الوبائية لدراسة تغيرات الأنسجة والمساعدة في تحديد سبب الموت.

## شروط أخذ العينة النسيجية واختيارها :

تؤخذ أثناء الحياة أو في أثناء العمليات الجراحية وتدعى بالخزعة Biopsy أو بعد الموت مباشرة.

١- شمولية العينة اذا أمكن: تشمل مناطق مختلفة من العضو أو النسيج.

٢- أن تؤخذ العينة بأسرع ما يمكن (خلال ٣٠ دقيقة ) و وضعها مباشرة في السائل المثبت و ذلك قبل بدء ظهورالتغيرات الرمية و عمليات التفسخ و التحلل الذاتي .

٣- حجم العينة: يجب أن تكون العينة صغيرة ( ٠.٥-١ سم) سم كي يسهل تثبيتها .

٤- طريقة قطع العينة: يجب استعمال سكين حاد كي لا يحدث تهتك في النسيج أثناء القطع كما يجب أن تكون العينة نظيفة.

٥- ترقيم العينة: يجب ترقيم العينات بأرقام تدل على مصدر و هوية العينة.

٦- يجب عند أخذ العينة الاهتمام ببنية العضو التشريحية النسيجية، فمثلا عند أخذ عينة من الكلية أو الكظر أو العقد اللمفية من الضروري احتواء العينة جميع الطبقات المكونة للعضو. وعلى العكس مثلا في الأعضاء التي ليس لها بنية طبقية يمكن أخذ العينة من أي جزء من العضو كالطحال والكبد والرئتين بحيث يضم مكان الإصابة

## تثبيت العينات المأخوذة :

**التثبيت:fixation تستخدم طرق كيميائية أو فيزيائية للمحافظة على التركيب الجزيئي والبنيوي للخلايا وتعطيل عمل الأنزيمات الحالة والجراثيم والفيروسات ....**

**الهدف من العملية :**

**-الحفاظ على الخلايا و توقيف عمليات التفسخ لأن وظيفة المثبت منع التفسخ و حفظ الخزعة لمدة طويلة . -**

**- تهيئة النسيج للمعاملات اللاحقة التي قد تتلف النسيج خلال عملية الادماج.**

**- تحويل مكونات الخلية من الحالة شبه السائلة إلى الحالة الصلبة بدون تغيير.**

**- زيادة معامل انكسار أجزاء الخلية وزيادة قابلية الصباغة.**

**يمكن أن تحدث تغيرات للعينات سواء بعد الموت أو بعد أخذها من كائن حي:**

**١- الجفاف والتقلص بسبب التبخر.**

**٢- التفسخ Microbal puterefaction :**

**وهو تخرب وتفسخ الخلايا بفعل الجراثيم والفطور.**

**٣- التحلل الذاتي Autolysis:**

**وهو تخرب الخلايا بفعل الأنزيمات الموجودة في الجسمات الحالة الموجودة طبيعياً في هيولى الخلايا التي تنفجر بعد موت الخلية وتتحرر الأنزيمات التي بدورها تحطم البروتينات الخلوية.**

## شروط تثبيت العينة :

ليتم تثبيت العينة لابد من توفر عدة شروط :

١- أن تكون كمية السائل المثبت أكبر من حجم العينة ب(١٥ – ٢٠) مرة .

٢- عند وضع الخزعة بسائل التثبيت يجب أن لا تلتصق بجدار أو قعر الإناء لأن السائل المثبت لا يمكن أن يدخل في الخزعة من الجهة الملتصقة بجدار أو قعر الإناء لذلك يجب وضع قطن طبي حول الخزعات الكبيرة التي نضمن وصول السائل المثبت إلى الخزعة من جميع الجهات .

٣- عدم غسل الأعضاء و الأجزاء المأخوذة بالماء قبل التثبيت ما عدا الأغشية المخاطية في الأنبوب الهضمي حيث تزال محتويات الأمعاء بالماء قبل التثبيت .

٤- يجب أن يكون الإناء زجاجياً نظيفاً و أن تكون الأدوات نظيفة .

٥- تغيير السائل إذا كان عكراً أو انصبغ بلون الدم .

٦- يجب أن تكون الخزعات رقيقة كي يدخلها سائل التثبيت بسرعة و سهولة .

٧- يجب شد الخزعات الرقيقة كقطع الأمعاء على ألواح خشبية كي لا تنطوي على بعضها البعض.

٨- يتم التثبيت بدرجة حرارة الغرفة و يتم بصورة أسرع بدرجة حرارة ( ٣٧- ٤٠) م .

## اذا كانت العينة عظمية يجب ازالة الكلس من العينة:

### طريقة إزالة الكلس من الخزعات العظمية :

هناك أنواع من النسج الصلبة مثل العظام و التي يتطلب تليينها لفحصها و تقطيعها و بالتالي نحتاج لتثبيتها من أجل تقطيعها بالميكراتوم لذلك نقوم بإمرارها بجميع مراحل التثبيت مع وضعها بالإضافة لذلك في حمض كلور الماء أو حمض الأزوت للإزالة المواد الكلسية على شكل محاليل بتركيز ٥ – ١٠% لعدة أيام ثم نقوم بعملية الإدماج و تقطيعها كأي نسيج عادي .

### محلول حمض الأزوت:

| | |
|---|---|
| -حمض الأزوت ٧٠% | ٥-١٠ مل |
| - ماء مقطر | يكمل الحجم إلى ١٠٠ مل |

### محلول حامض الفورميك – فورمالين :

| | |
|---|---|
| حامض الفورميك ٩٠% | ٥-١٠ مل |
| فورمالين | ٥ مل |
| ماء مقطر | تكمل الحجم إلى ١٠٠ مل |

# المثبتات

**يتميز المثبت الجيد بالصفات التالية:**

**آ ـ أن يكون سريع النفاذ خلال العينة.**

**ب ـ أن يعمل على تحويل المادة المراد الكشف عنها إلى مادة غير قابلة للذوبان وأن يمنعها من التحرك أو الانتشار من مكانها في النسيج إلى مكان آخر.**

**ج ـ أن يعمل على حماية النسيج من الانكماش والانتفاخ والتشوه أثناء عملية التثبيت، وأن يجعله قادرا على تحمل العمليات التالية للتثبيت.**

**د ـ أن لا يعيق عملية فحص النسيج وأجزائه ومكوناته المختلفة وأن يجعله قابلا للفحص المجهري.**

**قد تكون المثبتات بسيطة مكونة من مادة واحدة أو مركبة مكونة من عدة مكونات.**

## الفورمالين Formaldahyde:

يعتبر أهم المثبتات الكيميائية: عبارة عن غاز متطاير ينتج عن أكسدة الكحول الميتيلي ويذوب بالماء بسرعة ويعتبر تركيز ٤٠% أعلى تركيز ممكن الحصول عليه.

يعطي الفورمالين العينة صلابة نسبية في فترة قصيرة من الزمن ويحافظ على الشحوم والدهون في الأنسجة.

كذلك يسمح بتلوين القطع النسيجية بأي من الملونات. يحفظ الفورمالين ضمن زجاجات عاتمة.

تحتاج الخزعات للتثبيت مدة ٢٤-٤٨ ساعة في درجة حرارة الغرفة حسب حجم الخزعة، وفي المحم بدرجة ٣٦-٣٨ درجة مئوية تحتاج حوالي ١٥-١٨ ساعة، ويمكن استخدام التسخين حتى درجة ٨٠-٩٠ درجة مئوية عندها يحدث التثبيت بسرعة حوالي ٣-٥ دقائق.

**من أشهر محاليل التي يدخل في تركيبها الفورمالين:**

**- محلول الفورمالين المتعادل:**

| | |
|---|---|
| -فورمالين تركيز ٣٧- ٤٠% | ١٠٠ مل |
| - ماء مقطر | ٩٠٠ مل |
| -أحادي فوسفات الصوديوم | ٤ غ |
| - ثنائي فوسفات الصوديوم القاعدية اللامائية | ٦,٥ غ |

## الكحول الإيتيلي Ethylene alcohol :

يستخدم الكحول للتثبيت بتركيزين ٩٦- ١٠٠ عند الحاجة لإظهار الجراثيم أو الغليكوجين. ومنها حيث يستعمل الكحول. وله ميزات عديدة :

مدة التثبيت قصيرة جداً ( من بضع ساعات حتى اليوم ).

الخزعة رقيقة جداً من ٠.٣- ٠.٥ سم.

عندما تطول مدة التثبيت عن ٣ ساعات يبدل السائل مرة أو أثنتين حسب طول المدة ( كل ٣ ساعات مرة ).

بعد التثبيت الكحولي تحفظ العينات في الكحول تركيز ٨٠ درجة.

النسج الرخوة تنكمش بسرعة عندما تثبت بالكحول.

تستعمل هذه الطريقة عند التحري عن الحديد، الجراثيم، الغليكوجين والأميلويد.

يتم سحب الماء من الخزعات لذا تمرر مباشرة في الجهاز.

## محلول كارنوي:

**يستخدم بشكل خاص لتثبيت الأنسجة العصبية والكشف عن الغليكوجين**

**يتكون من :**

**١- حمض الخل الثلجي ١٠ مل**

**٢- كلوروفورم ٣٠ مل**

**٣- كحول اتيلي مطلق ٦٠ مل**

**مدة التثبيت ٢٠- ١٨٠ دقيقة**

## بعد عملية التثبيت

- **الغسل Washing:**

تؤخذ بعد التثبيت العينة وتغسل بالماء لمدة ثلاثين إلى ستين دقيقة ويفضل أن تترك لمدة أطول على ألا تتجاوز ٢٤ ساعة. يهدف ذلك إلى إزالة الفورمالين وتحقيق تلون متجانس للشرائح النسيجية.

- إذا كانت مثبتة بالكحول لا داعي لغسلها .

**نقوم بعملية الإدماج عن طريق أخذ العينة ثم :**

١- التجفيف Dehydration بورق النشاف دون الضغط على العينة ثم ننقلها إلى الكحول لإزالة الماء حيث تمرر العينة في تراكيز مختلفة من الكحول هي أولاً في كحول بتركيز ٧٠ % ثم بتركيز ٨٠ % ثم ٩٠ % ثم كحول مطلق .

تبقى العينة في الكحول ذي التركيز المنخفض لمدة ٣ ــ ٤ ساعات و في الكحول عالي التركيز لمدة ١٢ ــ ٢٤ ساعة .

إن هذه الفترة الزمنية تتعلق بحجم الخزعة فإن كانت أصغر من ١ سم٢ فإنها تبقى لفترة أقصر من الفترة المذكورة و إن كانت أكبر فإنها تبقى لفترة أطول .

## تابع عملية الادماج...

٢- التنقية Clearing بعد الانتهاء من وضع العينة و تمريرها في الكحول نضعها إما في الزايلول أو الكلوروفورم مرتين لمدة ١ – ٣ ساعات في كل مرة أو كل وعاء وذلك لجعل العينة شفافة تهدف إلى تهيئة النسيج لدخول مادة الادماج مثل الشمع بتخليصه من مواد التجفيف.

٣- الأرتشاح أو التشرب :Infelteration ننقل العينة إلى محلول آخر يتكون من الكلوروفورم أو الزايلول مع البرافين ( الهدف من مزج المادتين إعطاء إمكانية العضو لتشرب البرافين ليسهل نقله إلى الشريحة و كذلك التقطيع ) و ذلك لمدة ١-٣ ساعات ثم تنقل إلى وعاء يحوي كلوروفورم و بارافين لمدة ١-٣ ساعات بدرجة حرارة ٣٧ م . بعد ذلك ننقل العينة إلى محلول آخر هو البرافين الذائب (سائل ) بدرجة حرارة ٥٧ م و يوضع في الترموستات لمدة ٣ ساعات ثم ننقله إلى وعاء آخر من برافين سائل حتى درجة حرارة ٥٧ م لمدة ٣ ــ ٢٤ ساعة .

٤- ثم تنقل وتوضع في قوالب ويصب البارافين عليها وتوضع في البراد لتبرد وتتصلب.

٥- ننقلها بعد ذلك إلى مكعبات (نثبتها على مكعبات خشبية) و نقطعها إلى أجزاء صغيرة بواسطة الميكراتوم .

## مرحلة التقطيع Cutting:

تتم عملية التقطيع بواسطة جهاز يدعى مِشْراحٌ دَقِيْق Microtome، الذي يمكن بواسطته أن نحصل على رقائق ثخانتها ٢ مكرون ولكن غالبا تقطع الشرائح بسماكة ٤-٨ مكرون. يتألف المبشر من جزء لتثبيت العينة وجزء لتثبيت سكين التقطيع وجزء للتحكم بسماكة الشرائح. ويتوفر حاليا ثلاثة أشكال من أجهزة التقطيع:

المِشْراحٌ الدَقِيْق العادي ويستخدم لتقطيع العينات المدمجة بالبارافين

والمِشْراحٌ الدَقِيْق الكهربائي وفيه يتم تبريد وتجميد الخزعة إلى درجات حرارة منخفضة تصل حتى ٤٠ درجة مئوية تحت الصفر، ويستخدم لتقطيع الخزعات غير المدمجة وغير المثبتة عند البحث عن الشحوم والسكريات.

والمِشْراحٌ الدَقِيْق الغازي ويستخدم فيه غاز الفحم السائل الذي يتحول إلى غاز فيجمد الخزعات غير المدمجة ويسهل قطعها، ومن مساوئه أنه لا يعطي شرائح رقيقة.

## التلوين ( صباغة الشرائح ) Staining:

**بعد قطع الشرائح نقوم بتلوينها: الهدف من التلوين تسهيل رؤية النسج لأن المادة الملونة تعطي قرائن انكسار مختلفة مما يسهل تمييز الخلايا عن بعضها . هناك عدة أصبغة تستخدم للتلوين : تجري عملية التلوين على المقاطع النسيجية التي حصلنا عليها بالتقطيع بالمِشْراحُ الدَقِيْق، حيث تتقبل هيولى الخلايا الصبغات الحامضية بصورة شديدة، أما النوى فلها خواص جيدة في تقبل الصبغات القاعدية.**

### ١-أصبغة النواة :

**أ- لون أزرق للنواة**

**- الهيماتوكسلين**

**- أزرق المثلين**

**- التلودين الأزرق**

**ب - لون أحمر للنواة:**

**- الثيودين**

**- الكارمين**

### ٢- أصبغة الهيولى :

**- الأيوزين لون زهري .**

**- فوكسين حمضي لون أحمر**

**- حمض البكريك يلون الألياف بالأصفر**

**توجد ملونات خاصة للكشف عن بعض المواد:**

**ملونات الشحوم مثل السودان الثالث والرابع الذين يلونان القطرات الشحمية باللون البرتقالي**

**والسودان B يلون الشحوم باللون الأسود.**

**ويستخدم محلول شيف PAS لإظهار الغليكوجين،**

**وصبغة فان جيزون لإظهار ألياف الكولاجين حيث تظهر بلون أحمر.**

**صباغات التلوين المتغاير: وهو تلون النسيج بغير لون الصبغة المستعملة**

**مثل أزرق التوليدين وأزرق المتلين وصبغة جيمسا...**

**حيث تستخدم لصباغة حبيبات بعض الخلايا التي تمتلك هذه الخاصية مثل الخلايا البدينة**

**والخلايا القعدات. فتظهر الحبيبات باللون الأحمر في الخلايا البدينة.**

## الصباغة أو التلوين:

**تستخدم أصبغة صناعية أو طبيعية:**

- **الهيماتوكسلين: صباغ طبيعي نباتي تستخلص من شجرة بقولية من الجذوع في أمريكا الجنوبية. وهي صبغة قاعدية تتفاعل مع مكونات النواة الحامضية**
- **لا بد من أكسدة الصبغة وتحول الهيماتوكسلسين إلى هيماتين الذي يقوم بالصباغة وتتم العملية طبيعياً عن تعيض المحلول المائي للصبغة لأشعة الشمس مدة طويلة (التعتيق) أو أكسدة صناعية بإضافة عوامل أكسدة قوية مثل فوق أكسيد الهيدروجين أو أكسيد الزئبق....**
- **ومن الصباغات الطبيعية:**
- **- صبغة القرمز: تستخلص من جسم حشرة صغيرة تعيش على نبات الصبار واذا غلي القرمز مع ملح الشبة ينتج راسب يسمى الكارمن.**

- **من الصباغات المصنعة حمض البكريك المشتق من مادة البنزن: صبغة حامضية تتلون مع مكونات الهيولى القاعدية.**

## لصق المقاطع النسيجية على الشرائح الزجاجية:

تدهن بزلال البيض المخلوط مع الغليسرين، بحيث توضع نقطة صغيرة على طرف الزجاجة وتدهن بالإصبع وتجفف بالمحم بدرجة حرارة ٣٧ مئوية:

**لاصق ماير: يتكون من :**

١- زلال البيض ٥٠%

٢- جليسرول ٥٠%

يمزج المحلول جيداً ويضاف ١٠٠ ملغ تايمول لمنع نمو الجراثيم والفطور.

# الإدماج : الخطوات العملية :

١- التثبيت لمدة ٢٤ ساعة بالفورمالين .
٢- غسيل بالماء الجاري ٦ ساعات .
٣- كحول ٧٠ % ٢ ساعة .
٤- كحول ٨٠ % ٢ ساعة .
٥- كحول ٩٥ % ٢ ساعة .
٦- كحول ٩٥ % ٢ ساعة .
٧- كحول ١٠٠ % ٢ ساعة .
٨- كحول ١٠٠ % ٢ ساعة .
٩- كحول ١٠٠ % ٢ ساعة .
١٠- كلورفورم ٢ ساعة .
١١- كلورفورم ٢ ساعة .
١٢- بارافين ٣ ساعات .
١٣- بارافين ٣ ساعات .
١٤- الصب ضمن القوالب .

## تحضير الهيما توكسلين: (هيماتوكسلين ماير)

| | |
|---|---|
| -شبة الأمونيوم | ٥٠ غ |
| - هيدرات الكلور | ٥٠ غ |
| - بلورات الهيما توكسلين | ١غ |
| - حامض الستريك | ١غ |
| - أيودات الصوديوم | ٠,٢ |
| - ماء مقطر | ١٠٠٠مل |

حل الشبة في الماء المقطر بدون تسخين ثم أضف بلورات الهيماتوكسلين وبعدها أضف أيودات الصوديوم ثم حمض الستريك والكلورال هيدرات ... رج المحلول حتى تتم الإذابة بشكل كامل.

## صبغة الأيوزين:

-يمكن تحضير محلول كحولي على الشكل التالي:

١٠٠ مل كحول ايتيلي تركيز ٧٠ – ٩٦% يضاف لها اغ أيوزين

-أو محلول مائي :

١٠٠ مل ماء مقطر تضاف لها ١ غ أيوزين

## التلوين عملياً : الصباغة بالهيما توكسلين والأيوزين

١ - زايلول ١٠ دقائق
٢ - زايلول ٥ دقائق
٣ - كحول ١٠٠ % ٥ دقائق
٤ - كحول ١٠٠ % ٥ دقائق
٥ - كحول ٩٥ % ٥ دقائق
٦ - كحول ٨٠ % ٥ دقائق
٧ - كحول ٧٠ % ٥ دقائق
٨ - ماء مقطر % ٥ دقائق
٩ - صبغة الهيماتوكسين ١٥ ــ ٣٠ دقيقة
١٠- غسيل بالماء الجاري ١٠ ــ١٥ دقيقة
١١- غسيل بالماء المقطر نغمس فقط
١٢- حمض كلور الماء ١ % نغمس فقط
١٣- ماء المقطر نغمس فقط
١٤- صبغة الأيوزين ١٠-١٥ دقيقة
١٥- غسيل بالماء الجاري ١٠ ــ١٥ دقيقة
١٦- غسيل بالماء الجاري ١٠ ــ١٥ دقيقة
١٧- كحول من ٧٠ ــ ٨٠ ــ٩٥ ــ١٠٠ نغمس فقط
١٨- زايلول على مرحلتين الأولى نغمس فقط و الثانية حتى وضع الساترة

## تغطية الشرائح:

**يستخد أوساط مائية مؤقتة**

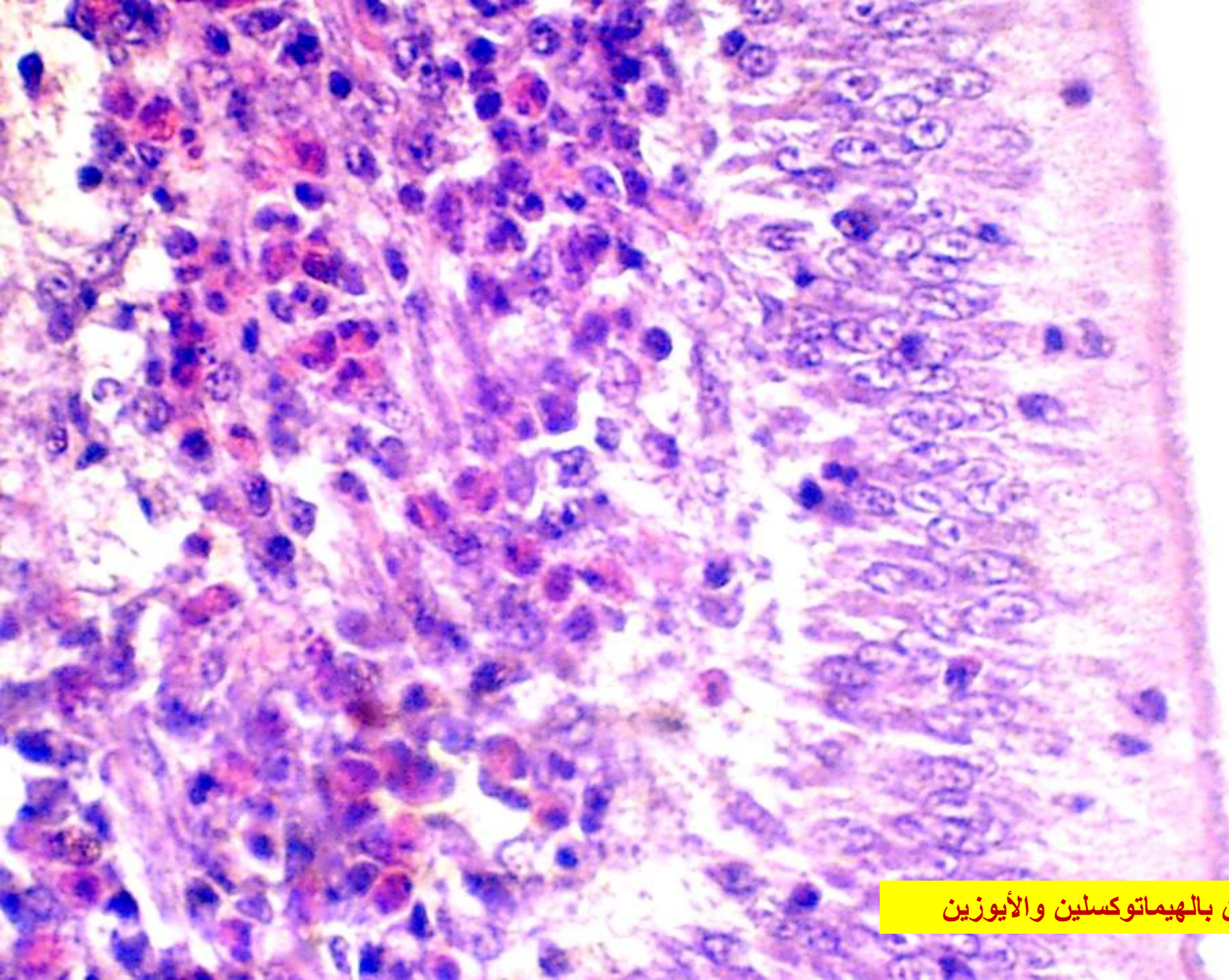
**أو يستخد مواد مثل بلسم كندا أو مواد صناعية أخرى.**

**بلسم كندا:**

**مادة طبيعية تفرز من نبات البلسم ومن صفاته أنه:**

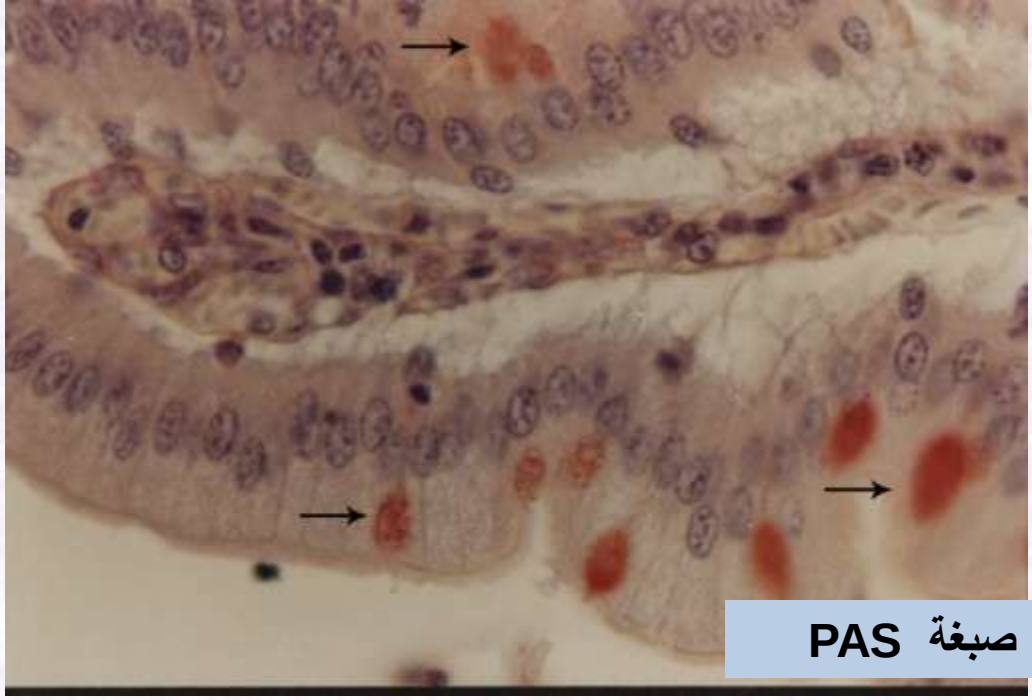
- **شفاف**
- **لا يتشقق**
- **يذوب بالزايلول بسهولة**
- **له معامل انكسار قريب من معامل انكسار الزجاج**
- **من عيوبه أنه يصبح حامضياً مع الزمن يسبب شحوب الصبغات.**

**يحضر باضافة الزايلول بنسبة ٤٠- ٥٠% إلى بلسم كندا**

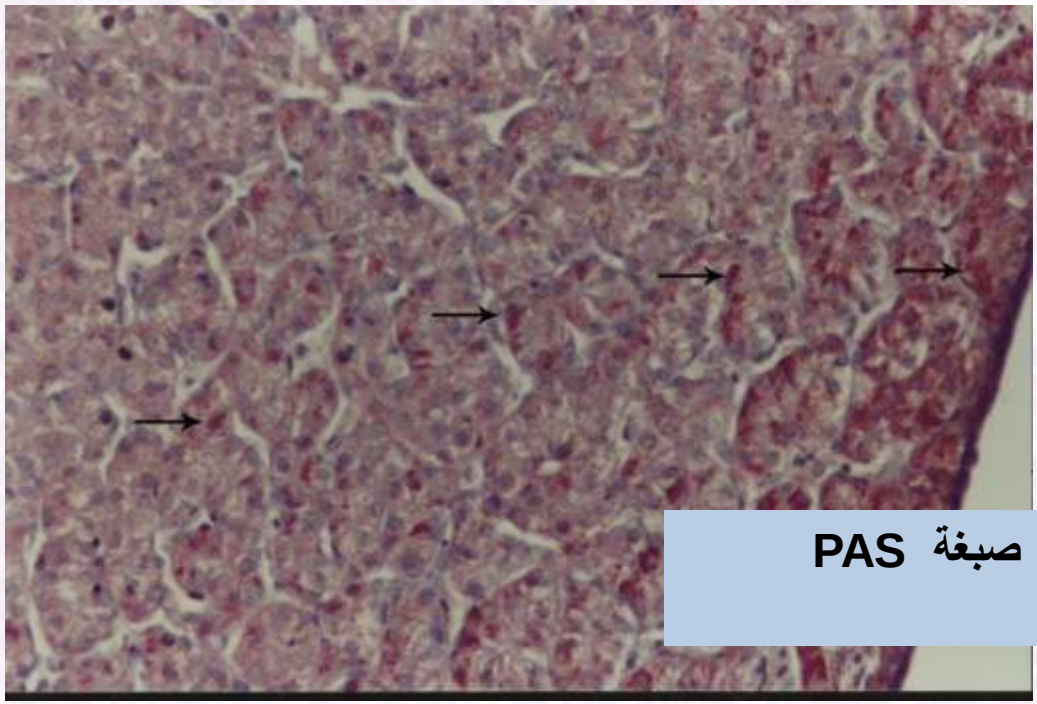


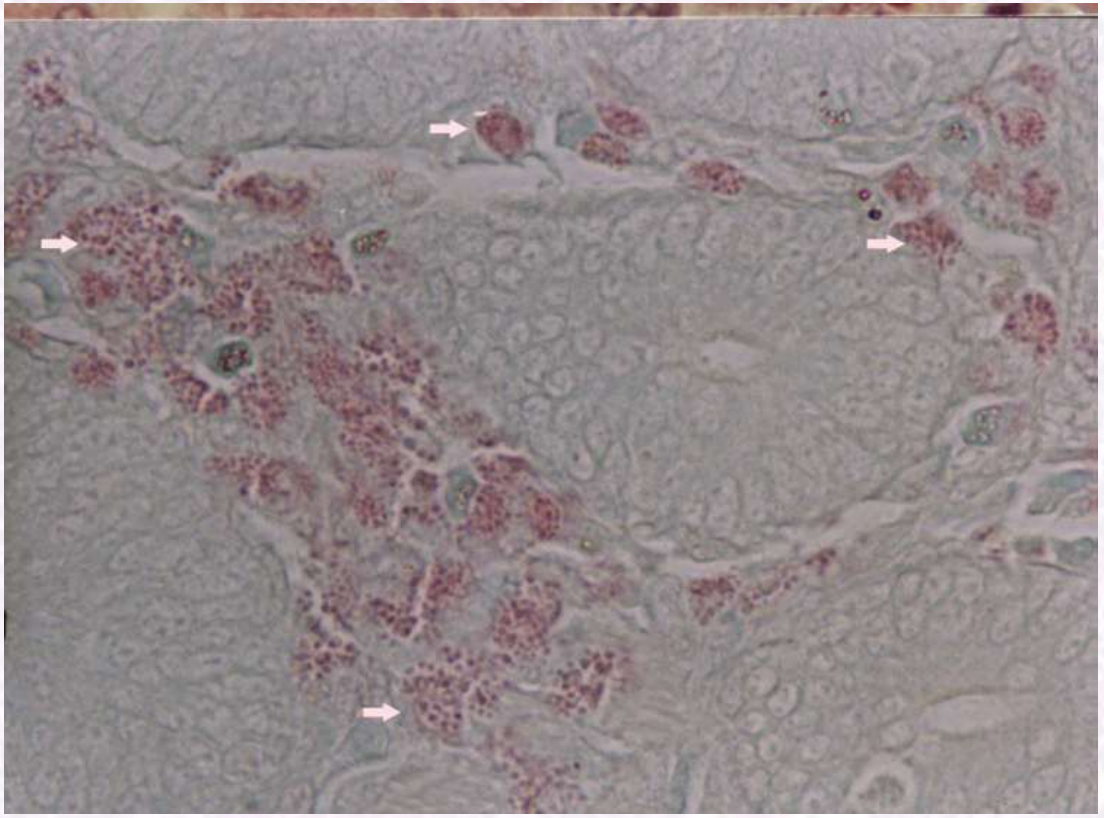
التلوين بالهيماتوكسلين والأيوزين

تلوين المواد المخاطية في الخلايا الكأسية في الأمعاء

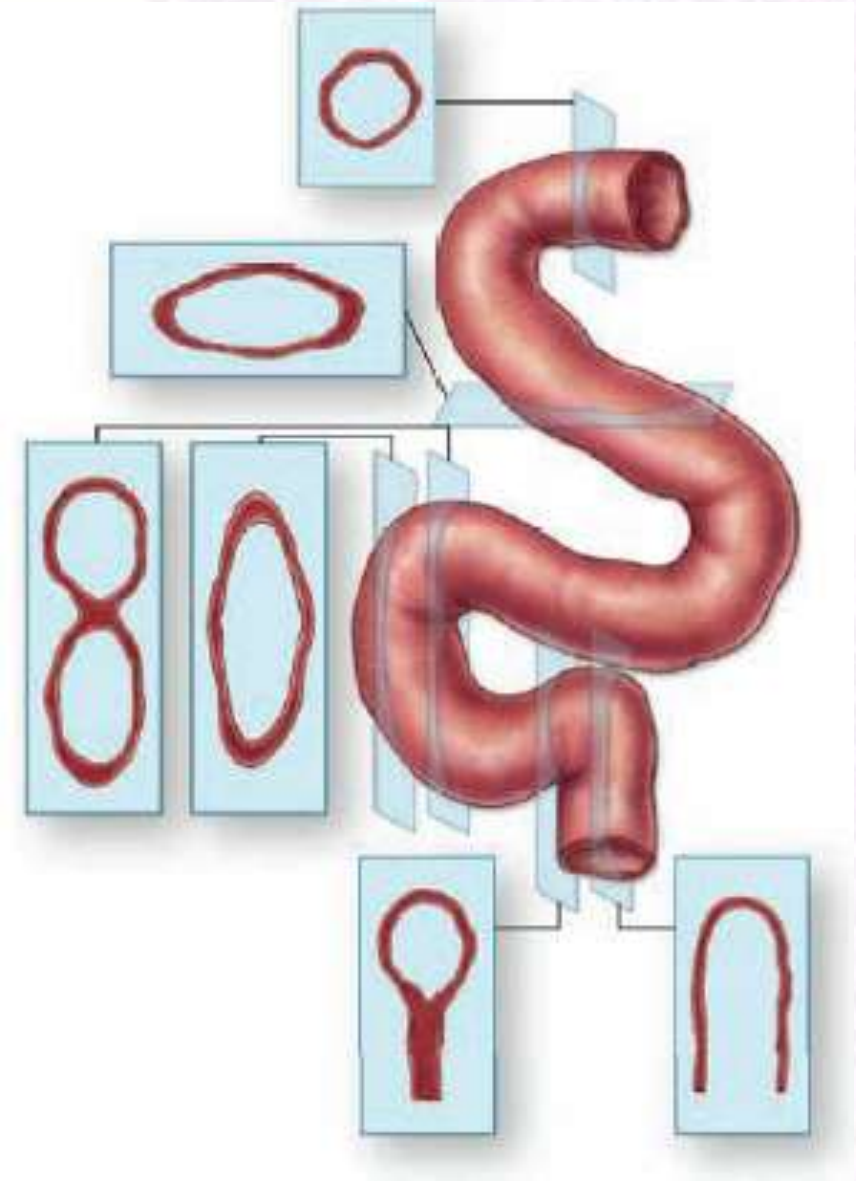



تلوين الغليكوجين في الكبد





صبغة جيمسا



## مشكلات درا سة المقاطع النسيجية:

١- خدعات نسيجية: شذوذات وتشوهات في المقاطع النسيجية

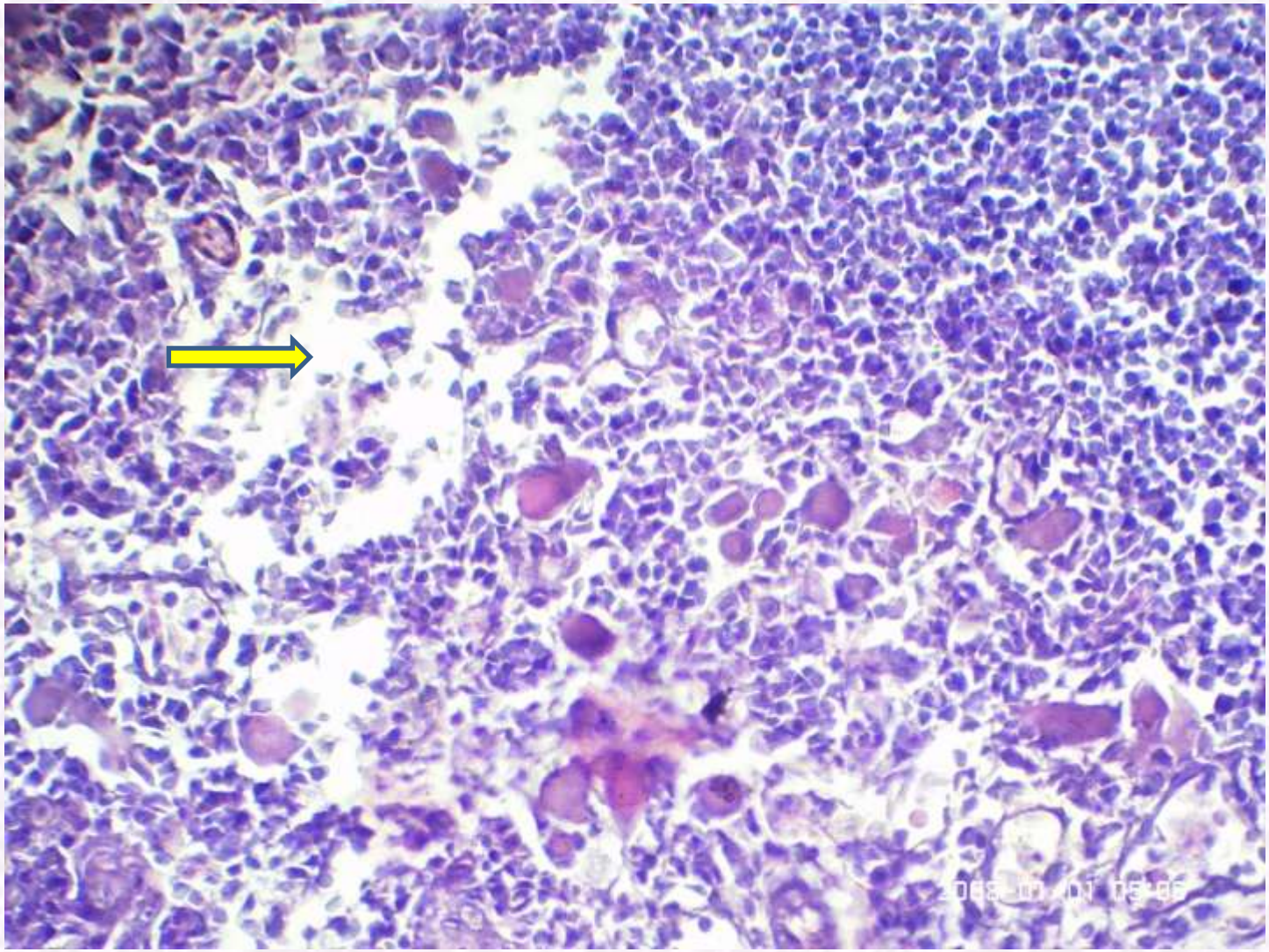
- فراغات مصطنعة: نتيجة التثبيت والادماج
- التجاعيد والترسبات

٢- التلوين

٣- غياب البعد الثالث

٤- القطع العشوائي

٥- فقدان بعض المكونات



فراغات مصطنعة: نتيجة التثبيت والادماج

## ميكارتوم يعمل بالتجميد



## جهاز صب الشمع



## الميكراتوم أو المشراح



# أجهزة ألية للإدماج بالبرافين





## جهاز صب شمع وتبريد



## محم تعويم الشمع





# جهاز الصباغة الآلية



## أوعية زجاجية للصباغة اليدوية

