الباب الثاني

التقنية الخلوية

- تحضير المسحات الخلوية
- صبغ المسحات الخلوية

obeikandl.com

obeikandl.com

الفصل الثامن

تحضير المسحات الخلوية

يقوم علم الخلايا المرضية Cytopathology على تشخيص الأمراض من خلال استخدام الخلايا المتساقطة Exfolative cells من الأنسجة الطلائية المبطنة والمغطية لأعضاء الجسم والأنابيب والقنوات والنبيبات المختلفة بالجسم، لذلك يطلق على هذا الفرع من العلوم المخبرية بعلم الخلايا المتساقطة Exfolative cytology أو علم الخلايا التشخيصي Diagnostic cytology. وعلى الرغم من التقدم الهائل في مجالات الطب والعلوم المخبرية خلال القرن العشرين إلا أن مسحات الخلايا المتساقطة تبقى الوسيلة الأنجع للتعرف المبكر على احتمالية حدوث تغيرات سرطانية من خلال ما يعرف بمسحة باب Pap. smear التي تحمل اسم العالم جورج بابنكولا George Papanicolaou المؤسس الفعلي لهذا العلم. وقد أتاح هذا العلم المخبري تشخيص مبكر لكثير من الأورام السرطانية مما وفر الكثير من حالات الوفيات وكذلك التكلفة المادية في علاج هذه الأورام في حال تشخصيها لوقت متأخر. وقد دلت الدراسات في الولايات المتحدة الأمريكية حول المسحات المهبلية وعنق الرحم بأن استخدام هذه التقنية أدى إلى خفض الوفيات بسبب سرطان عنق الرحم بحوالي ٦٠٪ خلال الفترة ١٩٥٠ - ١٩٩٨م. وأظهرت هذه الدراسات أن معدل الوفيات سنوياً بسبب سرطان الرحم هو ١٤ ألف حالة ثبت أن معظمهن لا يجرى لهن المسح الروتيني بمسحات باب إضافة إلى غياب

الفحص الدوري المنتظم. وتساعد المسحات الخلوية على علاج حالات النمو غير الطبيعي للنسيج Dysplasia لمنع تحولها إلى سرطان موضعي Carcinoma in situ.

يمكن الحصول على الخلايا المتساقطة من العديد من أعضاء الجسم وهذه الخلايا قد تكون طبيعية أو تمثل مراحل نمو لتغييرات مورفولوجية أو تحمل معها مظاهر مرض أو خلل فسيولوجي لعوامل متعددة منها ما هو طبيعي بسبب زيادة نمو الخلايا أو لأسباب مرضية متعددة كما تتساقط الخلايا بوتيرة عالية بسبب تأثيرات ميكانيكية وكيميائية وجرثومية وفيروسية إضافة إلى ضغوطات هرمونية أو استخدام تقنيات تعمل على كشط الخلايا السطحية لاستخدامها كوسيلة للتشخيص.

جمع العينات

تصنف عينات الخلايا المتساقطة إلى عينات نسوية Gynecologic وغير نسوية Non-gynecologic. وتشمل عينات الخلايا المتساقطة النسوية الآتي:

١ - مسحات إفرازات المهبل.

٢ - مسحات جدار الرحم.

٣ - مسحات عنق الرحم الخارجي Ectocervix.

٤ - مسحات عنق الرحم الداخلي Endocervix

٥ - مسحات من مكان التقاء عنق الرحم الداخلي والخارجي Squamo-columnar junction.

٦- مسحات عند التقاء عنق الرحم مع المهبل.

مسحات الإفرازات المهبلية

تساعد مسحات الإفرازات المهبلية Vaginal dischaargs في تشخيص الإصابات التالية:

١ - الالتهابات الجرثومية مثل جرثومة الكلاميديا *Chlamydia* وجرثومة السفلس *Treponema pallidum*.

٢ - الالتهابات الفيروسية مثل الإصابة بفيروس الهيربس *Herpes simplex* والفيروس البشري Human papilloma virus.

٣ - الالتهابات الفطرية خاصة الإصابة بفطر القلاع (المبيضة) *Candida albicans* المعروف بفطر المونيليا Monilia.

٤ - الإصابة بالمسوطه المهبلية *Trichomonas vaginalis*.

٥ - الإصابة بالالتهاب التكسوبلازمي Toxoplamosis.

٦ - التغيرات في مستويات الهرمونات الجنسية الأنثوية.

٧ - النمو غير الطبيعي للنسيج.

٨ - التغيرات السرطانية.

تشتمل المراحل المرضية الانتقالية نحو التغيرات السرطانية لعنق الرحم المعروفة Cervical interepithelial neoplasia على تغيرات في خلايا بطانة عنق الرحم ابتداءً من النمو غير الطبيعي وحتى السرطان الموضعي. ويشمل النمو غير الطبيعي على تغيير في خلايا البطانة الطلائية تكون سابقة مرحلة تكوين السرطان Pre-neoplastic قابلة للشفاء والعودة إلى الوضع السابق الطبيعي إذا ما تم علاج مسببات تكونها ولكنها تتحول إلى تغيرات سرطانية إذا لم تعالج. إن وجود التغيرات المرضية الانتقالية نحو سرطان عنق الرحم يكون على الأغلب مرتبط بتاريخ الإصابة بالفيروس البشري Human papilloma وأوضحت الدراسات أن هنالك العديد من الإصابات والتغيرات التي تتجه نحو تغيير سرطاني يعود إلى الاتصال الجنسي المبكر ومع العديد من الشركاء أو المصابين خاصة بالأمراض الفيروسية. ويشكل سرطان عنق الرحم حوالي ٦٠٪ من سرطان الجهاز التناسلي يليها سرطان الرحم (٢٠٪) يليه سرطان المبايض (١٣٪) فسرطان

الشفر المهبلي (٥٪) ثم سرطان المهبل (٢٪) ثم سرطان قناة فالوب (٠,٢٪) وهو أقل نسبة في الجهاز التناسلي للمرأة.

وفي معظم الحالات لا تظهر أي أعراض على المرأة في المراحل الأولى من الإصابة بسرطان عنق الرحم، لذا ينصح بالكشف من خلال مسحات خلوية لعنق الرحم بصورة دورية مرة كل خمس سنوات اعتباراً من عمر ١٨ - ٣٥ سنة ثم مرة سنوياً حتى عمر الـ ٤٥ سنة.

وفيما يلي بعض الأمور التي يجب أخذها بعين الاعتبار للحصول على أفضل النتائج في المسحات الخلوية من إفرازات المهبل.

١ - يجب تجنب استعمال مطهرات المهبل أو موانع الحمل المهبلية لمدة ٢٤ ساعة قبل الفحص وأخذ المسحة. وينطبق ذلك على الدوشات المهبلية الأخرى التي يجب الامتناع عنها ٢٤ ساعة على الأقل قبل أخذ العينة.

٢ - تجنب المعاشرة الجنسية ٢٤ ساعة على الأقل قبل أخذ المسحة.

٣ - أن يتم أخذ العينة بعد مرور أسبوع إلى الأسبوعين على انقطاع الطمث والأفضل أخذ العينة خلال النصف الثاني من الدورة الشهرية.

٤ - أن يتم تدوين وقت بدء الدورة الشهرية بالضبط.

٥ - الحرص على الحصول على أكبر كمية من الخلايا المتساقطة والحرص أن يتم أخذ مسحة من المنطقة الإنتقالية Transitional zone في عنق الرحم التي تحتوي على خلايا متساقطة من البطانة الداخلية لعنق الرحم. وهذه المنطقة تعرف أيضا Squamo-columar junction لعنق الرحم وهي المنطقة التي تؤخذ منها العينة لتحضير المسحات حيث أن هذه المنطقة تتواجد بها الأنواع المختلفة من الخلايا ومنها الخلايا المرضية وغير الطبيعية، وكذلك فهي المنطقة التي يبدأ بها سرطان عنق الرحم.

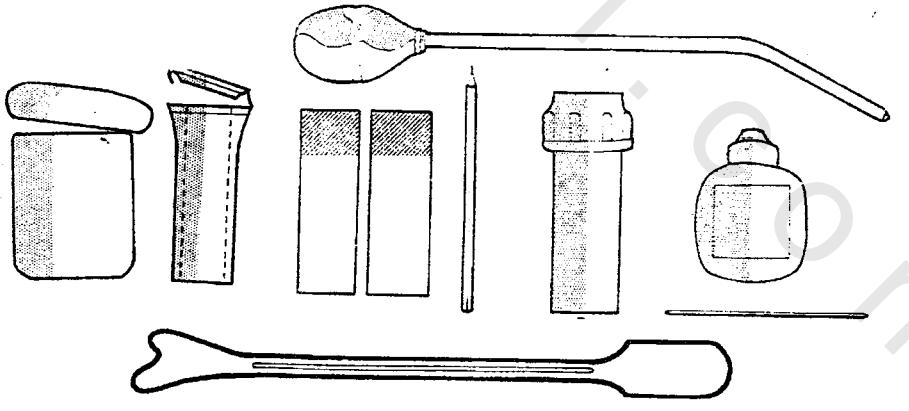
طرق جمع العينات المهبلية

شفط الخلايا

يتم شفط الخلايا خاصة من منطقة التقوس الخلفي للرحم Fornix. وتعتبر هذه الطريقة من أقدم وأفضل الطرق لجمع الخلايا من المجري التناسلي الأنثوي. ويتم الشفط باستخدام شافطة مطاطية ويستخدم أثناء ذلك آله لفتح المهبل لتسهيل شفط الإفرازات المجمعة وتعرف هذه الآلة بالمنظار المهبلي Vaginal speculum. وكما يمكن شفط خلايا قناة عنق الرحم Endocervical canal ومن تجويف الرحم Endometrial cavity ويتم الشفط من الرحم من خلال استخدام محقنة مرتبطة مع Cannula معقمة أو أنبوب بوليثلين معقم (الشكل رقم ٧٤).

كشط الخلايا

يتم كشط الخلايا باستخدام Ayre spatula أو باستخدام الملعقة الخشبية Wooden tongue blade لكشط الخلايا من جدار المهبل الجانبي لتحضير مسحات خلوية لغرض تحري التغيرات الهرمونية.



الشكل (٧٤). رسم تخطيطي لبعض الأدوات المستخدمة في كشط الخلايا وعمل المسحات وتثبيتها.

المسحات القطنية

تستخدم المسحات القطنية Cotton tipped swabs الماصة والمتوفرة تجاريا ، في جمع خلايا الإفرازات المهبلية خاصة وبشكل أساسي لتحضير مسحات خلوية من عنق الرحم.

أصابع الطبيب

يمكن الحصول على خلايا متساقطة من أصابع الطبيب الفاحص حيث يمكن أن تنقل الإفرازات العالقة على الأصابع إلى سطح شرائح تغمر مباشرة بأحد المثبتات.

الدوش المهبلي

يمكن عمل دوش مهبلي بواسطة ماصة ديفز Davis pipette واستخدام محلول فسيولوجي يحتوي على كحول إيثيلي (٢٠٪) مضبوط الرقم الهيدروجيني قلوي بعض الشيء ثم ترسل العينة مباشرة إلى المختبر.

وفي العادة فإنه يتم أخذ ثلاث مسحات خلوية مهبلية معاً : مسحة من عنق الرحم الخارجي وثانية من عنق الرحم الداخلي وثالثة من جانبي جدار المهبل حيث تستخدم مسحات عنق الرحم الخارجي والداخلي لتحرى وجود الالتهابات والتغيرات السرطانية بينما تستخدم مسحات جدار المهبل لتقييم الحالة الهرمونية .

وتشمل عينات الخلايا المتساقطة غير النسوية على سوائل الجسم المختلفة وبعض الإفرازات الأخرى وسنتطرق فيما يلي إلى أهمها :

- **البول**

يحتوي البول على الخلايا المتساقطة من البطانة الطلائية للكلية والمثانة والإحليل. وتفيد المسحات الخلوية للبول في تحري الآتي :

- مسببات التبول الهيمي Haematuria غير السرطاني.
- الإلتهابات الفيروسية.

- التغيرات السرطانية في المثانة والكلية.

يشاهد في مسحات البول الخلوية كل من الخلايا الطلائية الانتقالية Transitional epithelial cells وهي تشبه إلى حد كبير الخلايا فوق القاعدية ولكنها تبدو مكعبة أو عمادية، وخلايا طلائية حرشفية مصدرها الإحليل إضافة إلى الخلايا العملاقة متعددة الأنوية Multinucleated giant cells.

- **الفرشاة المريئية**

تفيد المسحات الخلوية لغسيل المريء في تحري الآتي:

- القلاع المريئي Eosophageal candidiasis

وهذه عبارة عن تغيرات في بطانة المرىء كنتيجة إلى رجوع حمض المعدة إلى المريء. وهذه الظاهرة المرضية شائعة بين الذكور أكثر من الإناث وكما أنها تنتشر بين البيض أكثر من انتشارها بين الزنوج الأمريكيين.

- التغيرات السرطانية.

- **فرشاة القصبة الهوائية Bronchial brush**

تحضر العينة عادة بحيث تغمر الفرشاة في المحلول الفسيولوجي وبالمختبر يتم خلطها بشكل بسيط بواسطة جهاز Vortex.

- **الحويصلة الرئوية Bronchial alveolar lavage**

تستخدم هذه العينات للحصول على خلايا ومكونات بروتينية من فراغات الحوصلات الرئوية. وتساعد مسحات خلايا هذه العينات في تشخيص التغيرات الالتهابية والسرطانية وكذلك في تحديد مسببات العدوى.

- **غسيل المعدة Gastric wash**

يطلب قبل جمع العينة من المريض الامتناع عن تناول الطعام وحتى الصباح وعدم شرب الماء قبل ساعتين من جمع العينة. يتم جمع العينة بواسطة محلول

فسيولوجي بعمل غسيل مرة واحدة والمريض على ظهره ومرة على بطنه وكل جانب ومرة في وضع الجلوس المستقيم. تساعد المسحات الخلوية للغسيل المعدي في تشخيص التغيرات النسيجية في طلائية الجزء العلوي من القناة الهضمية. وكما تساعد أيضاً عينات الفرش المعدية Gastric brushes التي يتم جمعها بواسطة المنظار في الغرض نفسه.

- **السائل النخاعي الشوكي Cerebrospinal fluid**

السائل النخاعي الشوكي عديم اللون يملأ التجاويف والحيز المحيط بالدماغ والحبل الشوكي كوسيلة عزل للمؤثرات الميكانيكية ونقل المخلفات الأيضية إلى الدم. يحتوي هذا السائل على بروتين ودهون قريبة من تركيزها بالدم ويكاد لا يحتوي إلا على عدد قليل من الخلايا اللمفاوية إلا أن عدد هذه الخلايا قد يزداد ويظهر أنواع أخرى من الخلايا قد تكون مسرطنة أو خلايا الأورام التي تصاحب السحايا. وتفيد دراسة المسحات الخلوية للسائل النخاعي الشوكي في الحالات التالية :

- سرطان الدم Leukemia .
- سرطان الجهاز اللمفاوي Lymphoma.
- الإصابة بفطر *Cryptococcus*.
- التغيرات في أغشية الجهاز العصبي المركزي.
- وجود خلايا سرطانية ذات مصادر أخرى.

يتم الحصول على السائل النخاعي الشوكي من خلال الشفط الإبري من منطقة الخاصرة القطنية أسفل الظهر. ويحتوي الجسم على ١٠٠ - ١٥٠ سم^3 من هذا السائل.

الأمنيوس (السائل الأمنيوسي) Amniotic fluid

تساعد المسحات الخلوية لسائل الجنين على تحديد نمو الجنين وحتى على تحديد جنس الجنين إضافة إلى تحليل الكروموسومات تبعاً لفترة الحمل حيث تبدأ الخلايا الطلائية بالظهور بعد ١٦ أسبوع من بداية الحمل. وتظهر بهذا السائل خلايا حرشفية سطحية وأحيانا تكون بدون أنوية وتتساقط هذه الخلايا من سطح الجنين وبالذات من الجلد وطلائية الفم بينما لا تظهر الخلايا جارة القاعدية قبل ٣٠ أسبوع من الحمل بعد ذلك تظهر خلايا عمادية من الغشاء الأمينوسي (غشاء السلى) Amnion.

سائل المفاصل (سائل الزلق) Synovial fluid

سائل الزلق هو السائل الذي يتجمع حول عظام المفاصل خاصة في حالات الالتهابات. يحتوي هذا السائل على عدد محدد من الخلايا يتراوح ما بين ٦٠ - ١٨٠ خلية/سم^{٣} معظمها خلايا وحيدة النواة. ويزيد عدد هذه الخلايا في حالة التهاب المفاصل على ٥٠٠ خلية بينما يصل في حالة الالتهاب الجرثومي إلى ٢٠ ألف خلية/سم^{٣}. وتتساقط الخلايا من الغشاء المبطن لتجاويف المفاصل Synovium.

السائل الجنبي Pleural fluid

السائل الجنبي (البلوري) هو السائل الذي يتجمع في التجويف الذي يحيط بالرئتين في التجويف الصدري. والسائل الجنبي هو عبارة عن تجمع غير طبيعي في التجويف البلوري ويدل تجمعه على اختلال في توازن بين أغشية البلورا الحشوية والجدارية. والسائل الجنبي في الإنسان السوي قليل الحجم شفاف يشبه في تركيبه البلازما ورقمه الهيدروجيني ٧,٦ - ٧,٦٤ ويحتوي على بروتين (٢٪) ومحتواه من الجلوكوز يقارب تركيز هذا السكر في البلازما. تتساقط الخلايا من البطانة الطلائية لغشاء البلور الحشوية والجدارية وكذلك في حالة أورام الرئتين والسرطان الأنبثاثي

والالتهاب الاسبستوزي. وكما يحتوي هذا السائل على جرثومة السل في حالة إصابة الرئتين بهذه الجرثومة. وفي الولايات المتحدة الأمريكية يفحص سنوياً ما معدله ١,٣ مليون عينة سائل بلوري لأغراض تشخيصية متعددة موزعة على النحو التالي:

- إصابات هبوط القلب المزمن الاحتقاني Congestive heart failure حوالي نصف مليون عينة.
- الالتهاب الرئوي البكتيري حوالي ٣٠٠ ألف عينة.
- أورام سرطانية حوالي ١٥٠ ألف عينة خاصة سرطان الرئة والقناة الهضمية والصدر.
- التهاب البنكرياس حوالي ٢٠ ألف عينة.
- تليف الأوعية الدموية حوالي ٦ آلاف عينة.
- الإصابة بالسل الرئوي ٢٥٠٠ عينة.

وبشكل عام فإن وجود خلايا سرطانية في سوائل الجسم على الأغلب دلالة على وجود سرطان إنبثاثي.

سائل تجويف البطن (السائل الصفقي): Peritoneal cavity

هنالك العديد من أنواع الخلايا التي يمكن أن تشاهد في المسحات الخلوية لسوائل تجويف البطن ومن هذه الخلايا كريات الدم البيضاء التي تشاهد بإعداد كبيرة في حالات الالتهابات إضافة إلى الخلايا الميزوثيلية Mesothelial cells والخلايا النسيجية Histiocytes والخلايا السرطانية المتنوعة خاصة في حالات الاصابة بالأورام السرطانية اللمفاوية وسرطان الدم. وتتساقط الخلايا الميزوثيلية من البطانة الطلائية لتجاويف الجسم Mesothelium وتمتاز هذه الخلايا بكبر حجمها وأنويتها وقد تحتوي على نواتين أو ثلاث أنوية وكما تمتاز بامتلاكها حزام مميز عن بقية السيتوبلازم.

الشفط الإبري Fine needle aspiration

يستخدم الشفط الإبري بشكل أساسي للحصول على خلايا من الثدي، الغدة الدرقية، العقد اللمفاوية، الغدد اللعابية، والأعضاء الداخلية مثل الكبد، البنكرياس، الرئتين، الكليتين ...ألخ وسائل الحويصلات الكيسية مثل حوصلة المبيض. ويتم الشفط الإبري من الكبد من خلال استخدام أبره قطرها ٠,٦ - ٠,٨ ملم حيث يتم امرارها بين عظمتي القص التاسعة والعاشرة. وتساعد مسحات الخلايا للشفط الإبري والكبد في تشخيص الأمراض التالية:

- التهاب الكبد الفيروسي.
- التهاب الكبد الحبيبي Granulomatous hepatitis الناتج عن التسمم.
- ترسب صبغيات الهيموسدرين Haemosidrosis.
- الإصابة بالداء النشائي Amyloidosis.
- أورام الكبد.

لابد من الإشارة إلى أن تقنية الشفط الإبري لا تساعد كثيراً لاستجلاء الإصابة بتليف ونخع الكبد حيث يلزم لذلك قطاعات نسيجية. والخلايا التي تشاهد في مسحات الشفط الإبري للكبد متنوعة منها:

- خلايا كبدية قد تكون طبيعية أو مصابة بنخر دهني.
- خلايا كوبفر.
- خلايا طلائية مصدرها القنوات الصفراوية.
- خلايا ميزوثيلية من سطح الكبد.
- خلايا إندوثيلية من بطانة الجيوب الكبدية.
- خلايا سرطانية.

وتساعد المسحات الخلوية التي يحصل عليها من الشفط الإبري للبنكرياس في تشخيص الآتي :

- التهاب البنكرياس.
- تكيس البنكرياس.
- أورام البنكرياس.

البلغم Sputum

يحتوي البلغم على الخلايا المتساقطة من الرئتين والشعب والقصبات الهوائية. تفيد دراسة المسحات الخلوية للبلغم في الحالات التالية :

- الإصابة بطفيلي *Pneumocystis carinii* الذي يصيب الرئتين.
- مرض استنشاق الحديد الرئوي Pulmonary siderosis
- التهاب الرئة الدهني Lipid pneumonia المشاهد عند الأطفال.
- في تحري سرطان الرئة بمختلف أنواعه

وللتشخيص الصحيح يجب أخذ عينات البلغم في الصباح بعد الاستيقاظ وقبل الفطور ومن ثم إرسالها إلى المعمل بالسرعة الممكنة وأن يتم اختبار الجزء السميك الموشح بالدم منها إذا وجد ذلك. ويمكن هرس الجزء السميك بالبلغم من خلال ضغطه بين شريحتين.

- **مسحات اللطخات الجلدية**

تساهم مسحات اللطخات الجلدية Cutaneous smears في تحديد طبيعة النتوءات الجلدية والنمو غير الطبيعي لخلايا الجلد. كما تساعد المسحات الخلوية للجلد في تشخيص الإصابة بفيروس الهربس.

obeikandl.com

• **مسحات نضح الحلمات**

تفيد المسحات الخلوية لنضح الحلمات Nipple discharge في تشخيص العديد من الأمراض التي تصيب الثدي. والقاعدة في ذلك أن أي نضح من حلمات الصدر باستثناء الحليب أمر غير طبيعي له مسببات عديدة منها.

- أورام الثدي.
- أورام الغدة النخامية.
- التغيرات في وظائف مهاد المخ Hypothalamus الناتجة من تعاطي المهدئات.

يشاهد نوعان من الخلايا في مسحات نضح الحلمات هما الخلايا البلعمية الكبيرة Macrophages وخلايا بطانة القنوات Ductal lining cells التي يزيد عددها في حالة الورم الثألولي لقنوات الحليب Papilloma.

• **مسحات الإفرازات الأنفية**

تعمل مسحات من الإفرازات الأنفية Nasal secretions لتحرى وجود الخلايا المحبه للإيوسين Eosinophils حيث وجودها يعني الإصابة بالحساسية.

تحضير المسحات

قبل تحضير المسحات الخلوية يجب نظر الأمور التالية بعين الاعتبار:

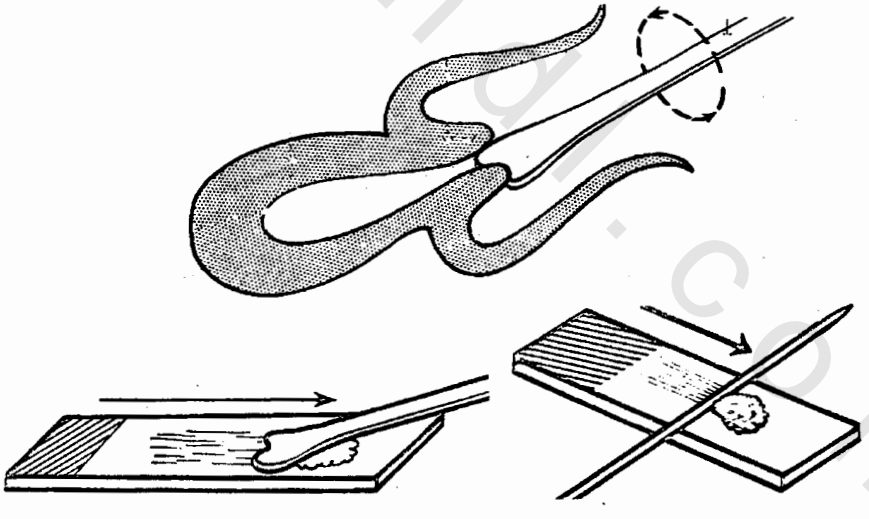
١ - يجب تجهيز كل ما يلزم لتحضير المسحات الخلوية شاملاً ذلك الشرائح النظيفة، وسائل الترقيم، المثبت ..... الخ.

٢ - بعض العينات خاصة المحتوية على إفرازات مختلطة بالدم يصعب أن تلصق خلاياها بالشرائح . لذا فإنه يفضل دهن الشرائح بمحلول الألبيومين Albumin المحضرة من بياض البيض أو المحتوية على خليط من الألبيومين والجلسرين.

٣ -يجب تجنب تحضير المسحات الخلوية السميكة التي تتراكم بها الخلايا فوق بعضها البعض.

٤ -يجب أن تنقل المسحات الخلوية حال تحضيرها مباشرة إلى المثبت مع الحرص الشديد أن لا تجف هذه المسحات بأي حال من الأحوال قبل غمسها بالمثبت حيث أن جفاف المسحات الخلوية قبل تثبيتها يجعلها وسيلة تشخيصية عديمة الفائدة.

٥ -يفضل إذا كان حجم العينة كافي قياس الكثافة النوعية والرقم الهيدروجيني لها وكذلك إضافة هبارين Heparin (٠,٥٪ مذاب في محلول فسيولوجي) بمعدل ٢ مل/لتر. وبكل الأحوال يجب عدم إضافة كحول أو فورمالين للعينة حيث أن الكحول يؤثر على شكل الخلايا والفورمالين يؤثر على أنويتها.



الشكل (٧٥). رسم تخطيطي يوضح طريقة تحضير مسحة خلوية من عنق الرحم.

تحضير المسحات

تحضر المسحات الخلوية من العينات الافرازية مثل مسحات عنق الرحم والمهبل وجدار الرحم والمسحات الأنفية بالمسح مباشرة من الوسيلة التي استخدمت لجمع الخلايا كالمسحات القطنية أو المعالق الخشبية مباشرة فوق الشرائح النظيفة ثم تنقل مباشرة إلى المثبت (الشكل رقم ٧٥). أما عينات البلغم فإنه يتم اختبار الجزء الكثيف المحتوي على مسحات للدم إن وجدت وتنقل بواسطة ملقط ناعم إلى الشرائح وتعمل منها مسحات من خلال فرد البلغم بشكل متجانس ما أمكن على وسط الشريحة ثم تنقل بعدها مباشرة إلى المثبت.

تحضر المسحات الخلوية من سوائل الجسم المختلفة بعد عمل طرد مركزي لهذه العينات ثم يستخدم الراسب لكل عينة وتعمل منه مسحات خلوية على شرائح نظيفة. وتستخدم بالوقت الحاضر أجهزة خاصة Cytospin (شكل ٧٦) لغرض تحضير مسحات خلوية حيث تقوم بعمل طرد مركزي وفرد الخلايا على شرائح خاصة تصبح المسحات جاهزة للتثبيت وللمراحل الأخرى من المعاملة. ويفيد هذا الجهاز في عمل مسحات خلوية من سوائل الجسم التي بالعادة تحتوي على عدد قليل من الخلايا مثل السائل النخاعي الشوكي. وكما يمتاز هذا الجهاز بالمحافظة على مورفولوجيا خلايا هذه السوائل بشكل تام. لذا فإنه ينصح باستخدامه في عينات سوائل الجسم التي قد تحتوي على خلايا الدم والفطريات والبكتيريا. وقد انتشر استخدام هذا الجهاز في معظم مختبرات الخلايا المرضية للأسباب السابقة إضافة إلى إمكانية استخدامه في عمل مسحات خلوية من سوائل الجسم ذات الحجم الصغير والتي يصعب تركيز خلاياها بواسطة أجهزة الطرد المركزي العادية. وكما يساعد هذا الجهاز على عدم تلويث العينات حيث أنه لا يصدر رشوشات من سوائل العينات أثناء تدويرها وبالتالي يساعد

ذلك على بقاء المعمل غير ملوث بهذه الرشوشات التي قد تحمل مسببات العدوى. وإذا لم يتوفر هذا الجهاز فإنه يمكن استخدام أجهزة الطرد المركزية الاعتيادية حيث يتم ذلك عند سرعة ٢٥٠٠ دورة/دقيقة ولمدة ٥ دقائق. وترسل العينات الخلوية النسوية إلى المختبر في مثبت يمزج مع العينة بنسبة ١ : ١ . ويحضر هذا المثبت كالآتي :

إيثانول مطلق	٤٩٪
عديد ايثيلين الجلايكول (Polyethylene glycol)	١,٩٪
محلول إيوسين	٠,١٪
ماء مقطر	٤٩٪

يوضح الجدول رقم (٧) بعض سوائل الجسم التي يجب أن تركز خلاياها بواسطة الطرد المركزي قبل تحضير مسحات خلوية منها والقيمة التشخيصية لذلك.

جدول (٧) . القيمة التشخيصية لسوائل الجسم.

العينة	القيمة التشخيصية
الشفط الإبري	التغيرات الالتهابية.
	الالتهابات الفطرية.
	الالتهابات الجرثومية.
	الأورام السرطانية.
سوائل الجسم وتشمل : -	الالتهابات الفيروسية.
- البول.	الالتهابات الفطرية.
- السائل النخاعي الشوكي.	الالتهابات الجرثومية.
- سائل تجويف البطن.	تحديد الأنواع المختلفة من البلورات.
- سائل البلورا (السائل الجنبي).	الأورام السرطانية.
- السائل الاستسقائي.	
- سائل المفاصل (السائل المزلق).	

obeikandl.com

تابع جدول (٧) .

العينة		القيمة التشخيصية
عينـــات الغســـل preparations وتشمل:	Washing	- التغيرات الالتهابية - وجـــود مســـببات العـــدوى خاصـــة الفطريات.
- غسيل المريء.		
- غسيل تجويف الفـم Buccal cavity washing		- الأورام السرطانية.

وفي حالة أخذ العينات من أماكن بعيدة عن المختبر فإنه يجب نقل عينات سوائل الجسم هذه بواسطة أوعية مغلقة محكمة الأقفال داخل أكياس بلاستيكية بحيث يحتوي وعاء كل عينة على كامل البيانات الخاصة بها.

الشكل (٧٦). صورة ضوئية لجهاز Cytospin المستخدم في تحضر مسحات خلوية لسوائل الجسم.

وكما أنه في خالة وصول عينات المسحات الخلوية إلى المعمل في وقت يتعذر معه تحضير المسحات الخلوية فإنه يمكن حفظها بالثلاجة بعض الوقت مع الأخذ بالإعتبار أن عينات غسيل المعدة لا يمكن تحضير مسحات خلوية منها إذا حفظت بالثلاجة. لذا يجب عمل مسحات خلوية من هذه العينات مباشرة حال وصولها إلى المعمل.

التثبيت

يستخدم العديد من المثبتات للمسحات الخلوية منها :

١ - كحول إثيلي (٩٥٪)، ولعينات البلغم يفضل أن يحتوي هذا المحلول على ٣٪ حمض خليك ثلجي.

٢ - خليط من حجوم متساوية من كحول إيثيلي (٩٥٪) وإثيل الأثير Ethyl ether (٩٥٪) بنسبة ١ : ١. ولا يحبذ استخدام هذا الخليط للعمل الروتيني في تثبيت المسحات الخلوية حيث أنه يتبخر بسرعة إضافة إلى أنه سريع الاشتعال.

٣ - خليط من الشمع الكربوني Carbowax وكحول إثيلي. ويمكن تخزين المسحات التي تثبت بهذا الخليط لأيام وأسابيع دون أن يلحق بها أي تلف.

ويحضر هذا الخليط كالأتي : يتم إذابة ٣٠ جم من الشمع الكربوني في ٥٠سم^{٣} من ماء مقطر دافيء. بعد أن يبرد المحلول يضاف إليه ٢ سم^{٣} من حمض الخليك الثلجي. وقبل الاستخدام مباشرة يتم خلط ٣ سم^{٣} من المحلول مع ٤٧ سم^{٣} من الكحول الاثيلي. وإذا ما كان الهدف تثبيت المسحات لغرض إرسالها بالبريد فإنه يتم وضع المسحات بشكل أفقي وتغطى بالمثبت لمدة ١٥ دقيقة حتى تجف المثبت وبعد ذلك يمكن وضع الشرائح في صناديق بلاستيكية وإرسالها بالبريد.

٤ - أيسو بروبيل الكحول (٩٥٪) .

٥ - كحول مثيلي.

٦ - خليط من ايثانول (٩٥٪) مع كحول بيوتيلي ثلاثي Tertiary butyl alcohol بنسبة (٣ : ٧).

٧ - المثبتات الرشوشية Spray fixative . تتوفر المثبتات الرشوشية تجارياً وهي عبارة عن رشوشات إيروسيلية مكونة من خليط من الكحول وحمض الخليك والزايلين أو جلايكول البروبالين. وتستخدم مثبتات الروشوشات في مسحات المهبل وعنق الرحم وأشهر هذه المثبتات استخداماً مثبت ايرسول رشوش الخلايا Cytospray aerosol fixative. هذا ويجب النظر بعين الإعتبار بأنه لا يحبذ بأي حال من الأحوال استخدام مثبتات الفورمالين في تثبيت المسحات الخلوية.

مدة التثبيت

يجب أن تبقى المسحات الخلوية على الأقل ١٥ دقيقة بالمثبت وكما يمكن إبقاء هذه المسحات في المثبت ٧ - ١٠ أيام دون أن يلحق ضرراً بها.

openkanal.com