

الملاحق

obeikandi.com

## إرشادات عملية عامة General Laboratory Aid

- عند تخفيف الأحماض أضف الحامض إلى الماء وليس العكس. ويجب أن نضيف الحامض ببطء.
- عند قياس كميات صغيرة من السوائل استخدم أدوات قياس صغيرة ضماناً للدقة.
- محلول الفورمالين يحتوى في واقع الأمر على حوالي ٤٠% من غاز الفورمالدهيد ولكنه يعامل في إعداد التحضيرات المجهرية كأنه ١٠٠% بمعنى عند تحضير ١٠% فورمالين، يقاس ١٠ مل من الفورمالين ويضاف إليه ٩٠ مل ماء مقطر.
- عند تحضير تركيزات مخففة (٨٠% - ٧٠% - ٥٠%) من الكحول فإنها تحضر من ٩٥% كحول، ويحظر تحضيرها من الكحول المطلق حيث إنه مرتفع الثمن كثيراً عن ٩٥% كحول ولا يستعمل إلا على حالته.
- عند تحضير ٧٠% كحول مثلاً من ٩٥% فإنه لسرعة العمل، يقاس ٧٠ مل من ٩٥% كحول بواسطة مخبار مدرج، ثم تزداد هذه الكمية إلى ٩٠ مل بواسطة الماء المقطر. وبنفس الطريقة يكمن تحضير أي تركيز مطلوب.

- عند قياس كمية من كحول مطلق أو حمض خليك تُلجى بواسطة مخبر مدرج فإنه يجب أن يكون مجففاً تماماً.
- عند تحضير ١٥٪ من سائل معين فإننا نقيس ١٥ مل من هذا السائل ونضيف إليه ٨٥ مل من الماء المقطر فتصبح الكمية النهائية ١٠٠ مل. وبالمثل عند تحضير ٢٠٪ كلوريد الصوديوم مثلاً فإننا نزن ٢٠ جرام منه ونذيبها في كمية محددة من الماء المقطر (٥٠ مل مثلاً). وبعد تمام الذوبان نكمل الناتج إلى ١٠٠ مل باستخدام الماء المقطر بحيث يكون لدينا بعد ذوبان الملح كمية من المحلول لا تزيد عن ١٠٠ مل.

#### تحضير محلول جزيئي Molecular Solution :

الوزن الجزيئي الجرامى لمادة ما هو مقدار كمية من هذه المادة وزنها بالجرامات يساوى عدد وزنها الجزيئي الجرامى لهذه المادة في لتر من المحلول لحجم نهائي. فمثلاً لتحضير محلول جزيئي من هيدروكسيد الصوديوم Na OH (وزنها الجزيئي ٤٠) نزن ٤٠ جم منها ونذيبها في ماء مقطر بحيث يكون المحلول في النهاية يساوى لتراً واحداً.

#### تحضير محلول عياري Normal Solution :

يحتوي المحلول العياري لمادة ما على المكافئ الجرامى من هذه المادة في محلول حجمه لتراً واحداً. ويعرف المكافئ الجرامى بأنه الكمية من المادة القادرة على التفاعل مع أو الإحلال محل جزيء واحد (٠٠٨ ، احم) من الهيدروجين.

وإذا أردنا بطريقة عملية معرفة الوزن من مادة ما الواجب وجوده في لتر محلول عياري فإننا نقسم الوزن الجزيئي للمادة على تكافئها.

### التعامل مع رابع أكسيد الأوزميوم (O<sub>4</sub>) Osmium tetroxide:

هذه المادة غالية الثمن؛ ولذا تستعمل منها كميات صغيرة قدر الإمكان. وهي توجد في المعمل على هيئة بلورات بوزن كمية = ١ حم في أمبولات زجاجية. ويجب الحذر التام عند تحضير محلول رابع أكسيد الأوزيوم (حمض الأوزميك) حيث إن بخاره سام ويسبب أضراراً بقرنية العين الحلق؛ ولذا يغسل الأمبول المحتوي على بلورات الحمض بالماء المقطر ونزيل الورقة الملصقة على الأمبول والمسجل عليها البيانات الخاصة به.

ضع الأمبول في زجاجة داكنة اللون محكمة الغلق بها كمية من الماء المقطر المراد اذابة رابع أكسيد الأوزميوم فيها لتحضير محلول تركيزه ٢٪. وأغلق الزجاج جيداً ورجها بشدة (وبداخلها الماء والأمبول) حتى يكسر الأمبول ويدوب رابع أكسيد الأوزميوم في الماء. هذا المحلول يحفظ لعدة شهور - إذا أريد - في الزجاج الداكنة اللون محكمة الغلق عند درجة حرارة ٤ درجات مئوية. وإلا حدث اختزال للمحلول. وعند استخدام كمية من المحلول فيستحسن أن يكون ذلك من خلال دولاب الأبخرة fume cupboard في المعمل. ويراعى عدم إرجاع الكمية التي استعملت من المحلول إلى الزجاج الأصلية مرة أخرى. كما يمكن تخفيف الكمية المأخوذة من المحلول عند الاستعمال إذا تطلب الأمر ذلك. ويلاحظ أنه مع الوقت يتكون راسب أسود على جدار الزجاج نتيجة اختزال المحلول، ويمكن منع ذلك بإضافة قطرة من محلول مشبع من كلوريد الزئبقيك لكل ١٠ مل من المحلول.

ويلاحظ أن بلورات رابع أكسيد الأوزميك OsO<sub>4</sub> عندما تذاب في الماء فإنها تكون مادة رمزها الكيماوي H<sub>2</sub>OsO<sub>5</sub> يشار إليها خطأً بكلمة حمض

بل هي متعادلة. ويلاحظ أن اكتساب الدهون للون الأسود بواسطة حمض الأوزميك يرجع إلى اختزاله إلى الأوكسيد الأقل درجة.

### استعمال نترات الفضة في الصباغة Silver nitrate

عند استعمال نترات الفضة في الصباغة كما في حالات جهاز جولجي واللييفات العصبية - يراعى استخدام أدوات نظيفة تماماً ومغسولة بـحمض الكبريتيك والكروميك ثم بالماء الجاري ثم الماء المقطر ثم تجفف جيداً وتحفظ بعيدة عن الأتربة.

كما يراعى في هذه الحالة تجنب أغشية الزجاجات المصنوعة من المطاط، كما يجب استخدام مواد كيماوية على درجة عالية من النقاوة في الطرق التي تستخدم فيها الفضة.

## المثبتات

### Fixatives

#### ❖ خليط حمض الخليك والكحول Alcohol- Acetic Acid Mixture

جزء ١	حمض الخليك الثلجي
جزء ٣	الكحول

#### ❖ مثبت بوين Bouin

٧٥ مل	محلول مائي مشبع من حمض البكريك
٢٥ مل	فورمالدهيد ٤٠٪
٥ مل	حمض الخليك الثلجي

#### ❖ مثبت بوين الكحولي Bouin (alcoholic)

١ جرام	حمض البكريك
٦٠ مل	فورمالدهيد ٤٠٪
١٥ مل	حمض الخليك الثلجي

#### ❖ مثبت زنكر Zenker's Fixative

٥ جم	كلوريد الزئبق
٢,٥ جم	ثاني كرومات البوتاسيوم
١ جم	كبريتات الصوديوم
١٠٠ جم	ماء مقطر
١ مل	حمض الخليك الثلجي

❖ مثبت فلنج Flemming's Fixative

٠.٨ مل	٢٪ رابع أكسيد الأوزميوم
٠.٤ مل	٥ ثالث أكسيد الكروم
٠.٥ مل	٢٠٪ حمض الخليك
٠.٨ مل	ماء مقطر

❖ مثبت هيلي Helly's Fixative

٥ جم	كلوريد الزئبق
٢.٥ جم	ثاني كرومات البوتاسيوم
١ جم	كبريتات الصوديوم
١٠٠ مل	ماء مقطر
	فورماين ٤٠٪

❖ مثبت التمان Altmann's Fixative

١ جزء	٢٪ رابع أكسيد الأوزميوم المائي
١ جزء	٥٪ ثاني كرومات البوتاسيوم المائية

❖ مثبت كارنوي Carnoy's Fixative

٦٠ مل	كحول إثيلي مطلق
٣٠ مل	كلورفورم
٥ مل	حمض خليك ثلجي

❖ مثبت هيدنهين (سوسا) Heidenhain's (Susa) Fixative

٤٥ جم	كلوريد الزئبق
٥ جم	كلوريد الصوديوم
٨٠٠ مل	ماء مقطر

٢٠ مل	حمض ثالث كلورالخليك
٢٠٠ مل	فورمالدهيد ٤٠٪
٤٠ مل	حمض الخليك الثلجي

❖ مثبت شامبي Champy's Fixative

٧ مل	حمض الكروم المائي ١٪
٧ مل	ثاني كرومات البوتاسيوم المائية ٣٪
٢ مل	رابع اكسيد الاوزميوم المائي ٢٪

❖ مثبت شاون Schaudin's Fixative

١٠٠ مل	كلوريد الزئبق المشبع (المائي)
٥٠ مل	كحول أثيلي مطلق
٥ مل	حمض الخليك الثلجي

❖ مثبت هولاندى Hollande's Fixative

٢٥ جم	خلات النحاس
٤ جم	حمض البكريك
١٠ جم	فورمالدهيد ٤٠٪
١,٥ جم	حمض الخليك الثلجي
١٠٠ مل	ماء مقطر

❖ مثبت سيررا Serra's Fixative

٦ أجزاء	كحول أثيلي مطلق
٣ أجزاء	فورمالدهيد ٤٠٪
١ جزء	حمض الخليك الثلجي

❖ مثبت تيجو Tjio's Fixative

كحول ايثيلي	٦ أجزاء
حمض الخليك الثلجي	٢ جزء
فورمالدهيد	١ جزء

❖ مثبت ديفدسن Davidson's Fixative

ماء مقطر	٣٥ مل
كحول ايثيلي	٣٠ مل
فورمالدهيد ٤٠٪	٢٠ مل
حمض الخليك الثلجي	١٠ مل

❖ خليط جلوتارالدهيد والاوزميوم (طريقة ترمب وبولجر) Trump Bulger &

جلوتارالدهيد ٥٠٪	١ جزء
رابع اكسيد الاوزميوم ٥٪	٢ جزء
١٠ جزيئي من منظم الكوليدين 0.1 M Collidine	

❖ مثبت منظم اوزميوم - سكروز Buffered OsO4 Sucrose

(التركيز النهائي للأوزميوم ١٪)	
رابع أوكسيد الأوزميوم ٢٪	٨ مل
منظم خلات الفيرونال (٧ و ٢ pH)	٢ مل
ماء مقطر	٤ مل
سكروز	٠.٧٢ جم
١ و٠ عياري حمض الأيدروكلوريك	٢ مل

❖ خليط الكروم والاوزميوم Chrome- OsO4

(التركيز النهائي للأوزميوم ١٪)

٤ % كرومات البوتاسيوم (٧ و ٢ pH) ١٠ مل

٣ و ٤ % كلوريد الصوديوم ١٠ مل

٢ % رابع أوكسيد الاوزميوم ٢٠ مل

❖ مثبت ١٠ % فورمول ملحي Formol Saline

فورمالين ٤٠ % ١٠٠ مل

كلوريد الصوديوم ٨.٥ جم

ماء ٩٠٠ مل

## طرق التنظيف

إن ظاهرة التلوث Contamination لتعتبر من أكبر المشاكل التي تواجه الباحث سواء كان ذلك التلوث بكتيريا أو كيميائياً، لهذا يجب أن يبذل جهد كاف في اختيار نوعية المواد والمعدات التي يحتاج لها في هذا المجال. لهذا يجب أن تكون جميع الأدوات المستعملة في مجال التحضيرات المجهرية على درجة عالية من النظافة ويوجد أربع طرق رئيسية لتنظيف مثل هذه الأدوات:

- i. التنظيف بالمذيبات Cleaning with detergents
- ii. التنظيف بالقليويات Cleaning with alkalis
- iii. التنظيف بالأحماض Cleaning with acids
- iv. التنظيف بالموجات فوق الصوتية Cleaning with ultrasonic waves

### ❖ التنظيف بالمذيبات:

تستعمل المذيبات الآن على نطاق واسع في مجال التنظيف وبالذات لتنظيف الأوعية البلاستيكية، ولكن يجب معرفة إن مثل هذه المذيبات صعب إزالتها وتحتاج إلى عمليات غسل جيدة بالماء الجاري ولعدة ساعات (٣ ساعات كحد أدنى وليلة كاملة كحد أعلى) وبعدها تغسل بالماء المقطر.

ومن أهم المذيبات شائعة الاستعمال في الوقت الحاضر المحاليل الآتية:

(أ) محلول الهيماسول Haemosol

(ب) محلول السترجين Stergen

ت) محلول الديكون Decon 75 ٧٥

ث) محلول الميكروسولف Microsolve

أما طريقة التنظيف فتتم حسب الآتي:

١. تترك المعدات في الماء العادي لفترة كافية من الزمن (فترة تخمير) بعدها تزال جميع الأوراق وما شابه ذلك من علامات أو آثار غير مرغوب في وجودها. والجدير بالذكر أن آثار الكتابة ببعض الأنواع من أقلام الشمع قد يصعب إزالتها بالماء؛ ولهذا تحتاج إلى معالجة خاصة مثل غطسها في ماء ساخن به مادة مذيبة وبعدها تمسح جيداً بقطعة من القماش

٢. تنقل المعدات إلى حوض التنظيف الفعلي الذي يحتوي على المحلول المذيب مثل (Decon 75) وتكون نسبة تخفيف المحلول (١: ٢٠٠) بالماء مناسبة جداً، لكن يجب عدم استعمال اليدين مباشرة بل يستحسن لبس قفازات المطاط الرقيقة للحفاظ على سلامة اليدين.

يفضل أن تترك المعدات ليلة كاملة ولو أن تركها لمدة ساعتين قد يؤدي الغرض المطلوب إذا كانت تلك المعدات أصلاً نظيفة، لكن يجب الغسل الجيد بالفرشاة.

٣. بعد عملية الغسل بالمذيب، يجب إزالة آثار المذيب تماماً، وذلك بغسل المعدات تحت الماء الجاري لعدة ساعات، ويفضل أن يكون هذا الماء مرشحاً.

٤. يجب غسل المعدات جيداً بالماء المقطر ثم تترك هذه المعدات لتجف في مكان نظيف خال من ذرات الغبار، أو تجفف عند درجة حرارة معتدلة داخل الفرن (oven).

#### ❖ التنظيف بالقلويات:

عملية التنظيف بالقلويات تشبه إلى حد كبير تلك الخطوات المذكورة في التنظيف بالمذيبات، ولكن من أشهر القلويات المناسبة للتنظيف ما يلي:

أ) ميتا سيليكات الصوديوم Sodium metacilicate

ب) كربونات الصوديوم Sodium carbonate

ج) فوسفات الصوديوم الثلاثية Sodium triphosphate

#### ❖ التنظيف بالأحماض:

استعمال الحموض مثل حمض الكبريتيك وحمض الكروم وحمض النيتريك في عمليات التنظيف أمر شائع ولو أن هناك بعض الأخطار المتوقع حدوثها في أثناء استعمال مثل هذه الحموض القوية، زيادة على انه من الصعب إزالة آثارها من المعدات. يعتبر حمض الكروم Chromic acid من أشهر الحموض المستعملة في الوقت الحاضر في عمليات التنظيف في مجال التحضيرات المجهرية، ويحضر حسب الآتي:

a. يوزن ٤٠ جرام من ثنائي كرومات البوتاسيوم.

b. تذاب الكرومات في كمية قليلة جداً من الماء المقطر.

c. يضاف حمض الكبريتيك المركز ويحذر شديد حتى يكتمل الحجم إلى لتر واحد، وعندها سوف يكون لون المحلول بنياً مصفراً.

يجب عدم استعمال المحلول في التنظيف عندما يتحول لون المحلول إلى اللون الأخضر. لكن يجب غسل آثار هذا الحمض من المعدات جيداً قبل الاستعمال.

❖ **التنظيف بالموجات فوق الصوتية:**

حديثاً طورت أجهزة دقيقة لتنظيف بعض المعدات الصلبة الدقيقة والحساسة والتي يصعب تنظيفها بالمحليل العادية، أو التي تؤثر عليها بعض المحاليل القوية بحيث توضع هذه المعدات داخل جهاز له القدرة على تكوين ذبذبات صوتية ذات تردد عال كفيلاً بتكسير الشوائب العالقة بهذه المعدات.

## بيئات اللصق Mounting media

### ❖ مادة بلسم كندا

تتركب مادة بلسم كندا من المواد الآتية:

Terpenes	التربينات
Carboxylic acid	حمض كربوكسيلي
Gum damer	صمغ دمار
Gum sandarac	صمغ السنروس

### ❖ مادة الايوبارال

تتركب هذه المادة من المكونات الآتية:

Oil of eucalyptus	زيت الاوكاليبوس
Gum sandarac	صمغ السنروس
Salol	سالول
Paraldehyde	بارالدهيد
Menthol	منثول
Camphor	كافور

### ❖ جيلاتين الجلسرين القيصري Kaiser glycerine jelly

٥٢ مل	ماء مقطر
٨ جم	جيلاتين
٥٠ مل	جلسرين

٠.١ جم

فينول

يترك الجيلاتين في الماء لمدة ساعتين، يضاف بعدها الجلسرين والفينول ثم ترفع درجة حرارة المحلول حتى ٦٥-٧٠ درجة مئوية، ويحرك المحلول لمدة ١٥ دقيقة حتى يتجانس تماماً.

يمكن حفظ مثل هذه البيئة في زجاجة جيدة الإحكام وعند درجة حرارة الثلاجة. لو زادت درجة حرارة المحلول عن ٧٥ درجة مئوية فإن الجيلاتين يتحول إلى ما يعرف ما بعد بالميتاجيلاتين Metagelatin وهذا النوع الأخير لا يتصلب ويبلغ معامل انكسار هذه البيئة ١.٤٢ عند درجة حرارة الغرفة.

#### ❖ بيئة اباثي Apathy's medium

٥٠ جم	صمغ عربي
٥٠ جم	سكروز
٥٠ مل	ماء مقطر
٠.٥٠ جم	ثيمول

يذاب الصمغ العربي في ماء دافئ ثم يضاف السكروز وعند يتم الذوبان يرشح المحلول ويترك ليبرد ثم تضاف المادة الحافظة مثل الثيمول. يبلغ معمل انكسار هذه البيئة ١.٥٢.

#### ❖ بيئة فرانت Ferrant's medium

٤٠ جم	صمغ عربي
٤٠ مل	جلسرين
٤٠ مل	ماء مقطر
٠.١ جم	فينول

يذاب الصمغ العربي في الماء أولاً ثم يضاف اليه الجلسرين والمادة الحافظة مثل الفينول ويبلغ معامل انكسار هذه البيئة ١,٤٢.

❖ **بيئة قرأى ووس (PVA) Gray and Wess medium**

تعمل عجينة من الكحول والأسيتون ثم تمزج نصف كمية الماء المقطر مع الجلسرين مع التحريك المستمر، ثم تضاف كمية الماء المتبقية قطرة مع الاستمرار فى التحريك. لون المحلول سوف يكون عكراً لكن يستحسن تدفئته لمدة عشر دقائق في حمام مائي حتى يصبح لونه رائقاً.

## الصبغات

### Stains

#### ❖ هارس هيما توكسيلين Harris Hematoxyline

يذاب ١ جم هيما توكسيلين في ١٠ مل كحول إثيلي.

يذاب ٢٠ جم: بوتاسيوم ألم  $Al_2(SO_4)K_2So_4.24H_2O$  potash alum

أو أمونيا ألم  $NA_4Al(SO_4)_2.12H_2O$  ammonia alum

في ٢٠٠ مل ماء وسخن حتى تغلى أضف محلول الهيماتوكسيلين للمحلول السابق واغل لمدة نصف دقيقة.

أضف ٠.٥ جم أكسيد زئبقيك ثم برد بسرعة.

أضف قطرات قليلة من حمض الثلجي glacial acetic acid لتحسين صفات

الصبغ.

لا تستمر صلاحية هذا الصبغ إلا لشهر واحد أو اثنين على الأكثر.

#### ❖ ماير هيما توكسيلين Mayer's Hematoxylin

أضف ١ جم هيما توكسيلين إلى لتر واحد من الماء المقطر وسخن على لهب

هادئ، ثم أضف ٢ جم إيوديات الصوديوم Sodium Iodate، ٥٠ جم بوتاسيوم

ألم Potash alum.

سخن حتى تمام الذوبان وأضف ١ جم حمض ستريك Citric acid و ٥٠ جم

كلورال هيدريت Chloral hydrate.

يتم نضج هذا المحلول خلال ٦ - ٨ أسابيع ولكن يمكن استعماله بعد أسبوعين من تحضيره.

❖ **مالوري حمض فوسفوتنجستيك - هيماتوكسيلين** Mallory's phosphotungstic acid- Hematoxylin stain

١ جم	هيماتوكسيلين
٢ جم	حمض فوسفوتنجستيك
١٠٠٠ مل	ماء مقطر

أذب الهيماتوكسيلين وحمض الفوسفوتنجستيك في كمية من الماء كل على حدة. سخن محلول الهيماتوكسيلين حتى يتوقف التغيير في اللون.

برد المحلول حتى تقل درجة إلى درجة حرارة الغرفة ثم أضف إليه محلول حمض الفوسفوتنجستيك أضف بعد ذلك ٠,١٧٧ جم من برمنجنات البوتاسيوم. يستعمل هذا المحلول بعد شهرين من تاريخ تحضيره.

❖ **ويجرتا أيرن هيماتوكسيلين** Weigert's iron hematoxylin

محلول (أ):	
٤ مل	كلوريد الحديد
٩٥ مل	ماء مقطر
١ مل	حمض هيدروكلوريك كثافة ١,٨٨-١,٢٩
محلول (ب):	
١ جم	هيماتوكسيلين
١٠٠ مل	كحول اثيلي ٩٥٪

عند كل استعمال أضيف كميات متساوية من المحلولين (أ)، (ب) ويمكن أن تستمر صلاحية المحلولين المضافين معاً لمدة أسبوع.

❖ الأيوسين Eosin stain

إيوسين	١ جم
كحول إثيلي ٧٠٪	١٠٠٠ مل
حمض خليك ثلجي	٥ مل

عند الاستعمال، خذ كمية من هذا المحلول وأضف إليها كمية مماثلة من ٧٠٪ كحول إثيلي وقطرتين من حمض الخليك، والصبغ حامضى ويراعى نزع الماء من القطاعات بعد الصباغة بسرعة فى ٩٥٪ كحول ثم الكحول المطلق.

❖ صبغ فان جيسون (المعدل) (Van Gieson modified)

فوكسين حامض Acid fuchsin	٠.٠١ جم
حمض بكريك Picric acid	٠.٠١ جم
ماء مقطر	١٠٠ مل

❖ صبغ مالورى الثلاثى Mallory Triple stain

يتكون من ثلاثة محاليل:

مالورى ١:

فوكسين حامض	١ جم
ماء مقطر	١٠٠ مل

محلول حمض الفوسفومولبدك:

حمض فوسفومولبدك Phosphomolybdic acid	١ جم
ماء مقطر	١٠٠ مل

مالورى ٢:

٠.٥ جم	Aniline blue أنيلين بلو
٢.٥ جم	Orange G أورانج ج
١٠٠ مل	ماء مقطر
٢ جم	Oxalic acid حمض أوكساليك

وعند استخدام هذا الصبغ فإن الأنيلين بلو يصبغ النسيج الضام والغضروف. ويصبغ الأورنج ج كرات الدم والغمد النخاعي للألياف العصبية والعضلات ويقوم الفوكسين بصبغ باقي التراكيب بالنسيج بما في ذلك أنوية الخلايا.

❖ **تحضير المحلول الاساسى لصبغ جمسا Stock solution of Giemsa stain**

٠.٥٠ جم	صبغ جمسا
٣٣ مل	جلسرين

سخن لمدة ساعتين في فرن درجة ٦٠ درجة مئوية. ثم أضف ٣٣ مل كحول مثيلي (متعادل خالي من الأسيتون).

ويجب حفظ صبغ جمسا في زجاجة داكنة اللون، حيث إن ضوء الشمس يتسبب في إتلافها.

وعند الاستعمال يخفف الصبغ بالماء المقطر بنسبة ١ : ١٠ أو بإضافة محلول منظم فوسفاتي ذي أس هيدروجيني يتراوح من ٦,٤ - ٧,٢.

ويلاحظ أن صبغ جمسا ذا صبغ مركب حيث إنه يحتوي على إيوسين Eosin Y ، أزورت Azures وميثيلين بلوكورايد Methylene blue chloride.

❖ تحضير المحلول الأساسي لصبغ لثمان Leishman's stain

صبيغ لثمان	٠,١٥ جم
كحول مثيلي نقي	١٠٠ مل

ويستحسن إضافة المحلول إلى الصبيغ على دفعات مع الصحن حتى يتم إذابة الصبيغ، ويستحسن كذلك عدم استعمال الصبيغ قبل حوالي أسبوعين من التحضير.

❖ صبغ بست كارمين Best's carmine

كارمين	٢ جم
كربونات البوتاسيوم	١ جم
كلوريد بوتاسيوم	٥ جم
ماء مقطر	٦٠ مل

- اغل هذه المواد على نار هادئة في قارورة كبيرة (لتجنب آثار الفوران) لمدة خمس دقائق ثم برد.
- أضف ٢٠ مل من أمونيا مركزة.
- رشح وخذن الرشيع في وعاء داكن اللون عند درجة ٤ درجة مئوية.
- المحلول صالح لمدة شهر أو شهرين.

❖ صبغات الرصاص Lead

- صبغة خلاط الرصاص: Lead acetate
  - يحضر محلول مشبع من خلاط الرصاص في ماء مقطر مغلي.
  - يخلط المحلول في زجاجات محكمة القفل ويضاف إليه بعض من بلورات سترات الرصاص.

- بعد أخذ كميات قليلة من الصبغة تملأ الزجاجاة مرة أخرى حتى فوهتها بالماء المقطر المغلي.
- تجري عملية الصبغ بجعل القطاعات المحملة على الشبكات النحاسية تطفو في قطرات من المحلول لمدة ٥ - ٣٠ دقيقة.
- تغسل القطاعات جيداً في الماء المقطر.

❖ صبغة سترات الرصاص Lead citrate

نترات الرصاص	١,٣٣ جم
سترات الصوديوم	١,٦٧ جم
ماء مقطر	٣٠ مل

رج المكونات السابقة في زجاجة سعة ٥٠ مل لمدة ٢٠ دقيقة، ثم أضف ٨ مل من ١ عياري هيدروكسيد الصوديوم، ثم خفف بالماء المقطر إلى حجم ٥٠ مل، اخلط بالقلب ويكون المحلول جاهزاً للاستعمال عندما يصبح رائقاً.

❖ صبغة الفضة Silver stain

٣٪ هكساميثيلين رباعي الامين Hexamethylene amine	١٨ مل
١٠٪ نترات الفضة	٢ مل
٢٪ بورات الصوديوم	٢ مل

❖ خلاات اليورانيل Uranyl acetate

(طريقة الصبغ قبل الطمر)	
خلاات اليورانيل	١ جم
١٠٪ اسيتون أو كحول اثيلي	٥٠ جم
تخلط لمدة ٨ دقائق.	

(طريقة الصبغ للقطاعات)

٢٠ جم

خلات اليورانيل

٤ مل

ماء مقطر

❖ الصبغات السالبة

المحالييل:

(١) ١ - ٥ ٪ من حمض الفوسفوتتجستيك.

(٢) ٢ ٪ من خلالات اليورانيل.

(٣) ١ ٪ فورمات اليورانيل.

(٤) ١ - ٣ ٪ تنجسات الليثيوم.

(٥) ٢ ٪ تنجستوبرات الصوديوم

## المحاليل المنظمة Buffer solutions

يلزم تحضير المحاليل المنظمة في كثير من الطرق المستخدمة لتجهيز العينات للفحص الميكروسكوبي وتستخدم بالضرورة فيما يتعلق بكيمياء الأنسجة histochemisrty وخاصة في حالات الكشف عن الإنزيمات enzymes. والجدول التالية (١ - ٣) توضح المحاليل المنظمة المستخدمة في هذا المجال وكيفية تحضيرها.

جدول رقم ١

Buffer	molarity	Preparation	pH Range										
			3.6	3.8	4.0	4.2	4.4	4.6	4.8	5.0	5.2	5.4	5.6
1. Acetate Buffer A. Sodium acetate B. Acetic acid Distilled water	0.2 M 0.2 M	1.64 g in 100 ml 1.2 ml in 100 ml	3.7 46.3 50.0	6.0 44.0 50.0	9.0 41.0 50.0	13.2 36.8 50.0	19.5 30.5 50.0	24.5 25.5 50.0	30.0 20.0 50.0	35.2 14.8 50.0	39.5 10.5 50.0	41.2 8.8 50.0	45.2 4.8 50.0
2. Veronal Acetate A. Sodium acetate Sodium barbitione B. Hydrochloric acid B. Distilled water	0.1 N	1.17 g and 0.84 ml in 100 ml	5 14.0 4	5 13.0 5	5 12.5 5.5	5 12.0 6	5 11.0 7	5 10.0 8	5 9.5 8.5	5 9.0 9.0	5 8.5 9.5	5 8.0 10.0	- - -
3. Citrate-Citric acid A. Sodium citrate B. Citric acid Distilled water	0.1 M 0.1 M	3.57 g crystals in 100 ml 2.10 g in 100 ml	13.0 37.0 50	15 35.0 50	17 33.0 50	18.5 31.5 50	22 28 50	24.5 25.5 50	27.0 23.0 50	29.5 20.5 50	32.0 18 50	34.0 16.0 50	36.3 13.7 50
4. Phosphate-Citrate A. Sodium phosphate, Dibasic B. Citric acid Distilled water	0.2 M 0.1 M	2.83 g in 100 ml 2.10 g in 100 ml	32.2 67.8 -	35.5 64.5 -	38.5 61.5 -	41.4 58.6 -	44.1 55.9 -	46.7 53.3 -	49.3 50.7 -	51.5 48.5 -	53.6 46.4 -	55.7 42.3 -	58.0 42.0 -

جدول رقم ٢

Buffer	molarity	Preparation	pH Range										
			5.2	5.4	5.6	5.8	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2
1. Phosphate A. Sodium phosphate, Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> B. Sodium phosphate, Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> Distilled water	0.2 M  0.2 M	2.75 g in 100 ml  2.83 g in 100 ml	- - -	- - -	- - -	46.0 4.0 50	43.8 6.2 50	40.7 9.3 50	36.7 13.3 50	31.2 18.8 50	25.5 24.5 50	19.5 30.5 50	14.0 36.0 50
2. Phosphate Citrate A. Sodium phosphate, dibasic B. Citric acid Distilled water	0.2 M 0.1 M	2.83 g in 100 ml 2.101 g in 100 ml	53.6 46.4	55.7 42.3	58.0 42.0	60.4 39.6	63.1 36.9	66.1 33.9	69.2 30.8	72.7 27.3	77.2 22.8	82.3 17.7	86.9 13.1
3. Tris-Maleate A. (1) Tris † (2) Maleic acid B. Sodium hydroxide Distilled water	0.2 M 0.2 M	2.42 g } in 100 ml 2.32 g } 0.8 g in 100 ml	25 3.5 71.5	25 5.4 69.6	25 7.7 67.3	25 10.2 64.8	25 13.0 62.0	25 15.7 59.3	25 19.5 55.5	25 21.2 53.8	25 22.5 52.5	25 24.0 51.0	25 25.5 49.5
4. Veronal Aceleate A. (1) Sodium acetate, 3H <sub>2</sub> O (2) Sodium barbitione B. Hydrochloric acid Distilled water	0.1 N	1.17 g } in 100 ml 2.94 g } 0.84 ml in 100 ml	- - -	5.0 8.0 10	- - -	- - -	- - -	5.0 7.0 11	- - -	- - -	5.0 6.5 11.5	5.0 6.0 12	5.0 5.5 12.5

جدول رقم ٣

Buffer	molarity	Preparation	pH Range													
			5.2	5.4	5.6	5.8	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2			
1. Phosphate A. Sodium phosphate, NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> B. Sodium phosphate, Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> Distilled water	0.2 M 0.2 M	2.75 g in 100 ml 2.83 g in 100 ml	-	-	-	46.0	43.8	40.7	36.7	31.2	25.5	19.5	14.0			
2. Phosphate Citrate A. Sodium phosphate, dibasic B. Citric acid Distilled water	0.2 M 0.1 M	2.83 g in 100 ml 2.101 g in 100 ml	53.6 46.4	55.7 42.3	58.0 42.0	60.4 39.6	63.1 36.9	66.1 33.9	69.2 30.8	72.7 27.3	77.2 22.8	82.3 17.7	86.9 13.1			
3. Tris-Maleate A. (1) Tris† (2) Maleic acid B. Sodium hydroxide Distilled water	0.2 M 0.2 M	2.42 g } in 100 ml 2.32 g } 0.8 g in 100 ml	25 3.5 71.5	25 5.4 69.6	25 7.7 67.3	25 10.2 64.8	25 13.0 62.0	25 15.7 59.3	25 19.5 55.5	25 21.2 53.8	25 22.5 51.0	25 24.0 49.5	25 25.5			
4. Veronal Acetate A. (1) Sodium acetate, 3H <sub>2</sub> O (2) Sodium barbitione B. Hydrochloric acid Distilled water	0.1 N	1.17 g } in 100 ml 2.94 g } 0.84 ml in 100 ml	-	5.0 8.0 10	-	-	-	5.0 7.0 11	-	-	-	5.0 6.5 11.5	5.0 6.0 12	5.0 5.5	5.5	12.5

## النفايات البيولوجية الضارة BIOHAZARDOUS WASTES

إن العمل في التحضيرات المجهرية يصاحبه دائماً مخلفات بيولوجية وكيميائية متنوعة. وتتمثل المخلفات الكيميائية في بقايا المواد الكيميائية المستخدمة في العمليات المختلفة لتجهيز العينات وخاصة المواد السامة مثل الألدheidsات ورابع أكسيد الأوزميوم، وكذلك المواد ذات الطبيعة الإشعاعية مثل صبغة خلات اليورانيول، وقد تناولنا مخاطر هذه المواد وكيفية التعامل معها.

أما النفايات البيولوجية biological wastes فهي تتمثل في بقايا العينات البيولوجية التي يتم التعامل معها في مجال التحضيرات والدراسات المجهرية، وأغلبها يكون من الكائنات الدقيقة والأنسجة الحيوانية والنباتية والسوائل الحيوية (مثل الدم) وهي في الواقع ملوثات ومخلفات معدية infectious wastes تحمل العديد من العوامل المرضية pathogenic agents مثل الميكروبات المختلفة كالبيكتيريا والفطريات والفيروسات والطفيليات وكذلك المواد السامة toxins التي تنتجها هذه الميكروبات والتي بدورها تسبب أمراضاً للإنسان والحيوان والنبات. وفيما يلي نتناول هذا النوع من المخلفات من حيث تقسيمها وطرق التخلص منها.

## تعريف وتقسيم المخلفات البيولوجية IDENTIFICATION OF BIOHAZARDOUS WASTES

يمكن تقسيم المخلفات البيولوجية المعدية إلى خمس أقسام رئيسية كما

يلي:

١. المزارع الميكروبية والعوامل البيولوجية ذات العلاقة *Microbial cultures and*

*: associated biologicals*

هذا القسم يشمل:

- المزارع الناتجة من المعامل الطبية والباثولوجية *pathological*  
*.laboratories medical and*
- المزارع والعوامل المعدية المخزنة *stocks of infectious agents* من المعامل  
البحثية والصناعية *.research and industrial laboratories*
- مخلفات المنتجات الحيوية *wastes from the production of biologicals*
- مخلفات اللقاحات الحية أو المضعفة *discarded live and attenuated*  
*.vaccines*
- أطباق الزراعة (أطباق بتري) وأدوات تجميع وتناول العينات وأدوات  
إجراء الاختبارات التشخيصية *assemblies and devices used to*  
*.conduct diagnostic testes*

٢. المخلفات الباثولوجية Pathological wastes :

المخلفات الباثولوجية للإنسان تشمل الأنسجة tissues والأعضاء organs والسوائل الحيوية body fluids التي يمكن إزالتها من الجسم عن طريق الجراحة surgery أو بطرق طبية أو معملية أخرى.

٣. مخلفات الدم ومنتجاته والسوائل الحيوية للإنسان blood products and body

: fluid wastes , Human blood

هذا القسم يشمل:

- دم الإنسان human blood ومنتجاته.
- مكونات الدم مثل السيروم serum والبلازما plasma والصفائح platelets وغيرها، حيث يتم تناول هذه المكونات لمتابعة المرضى معملياً.
- أكياس الدم الوريدي intravenous bags التي تستخدم في عمليات نقل الدم blood transfusion.
- عينات الدم والسوائل الحيوية وحاوياتها specimens and their containers والأدوات البلاستيكية التي تستخدم في تناولها.

٤. مخلفات الحيوانات Animal wastes :

هذه المخلفات الحيوانية تشمل الذبائح الملوثة contaminated animal carcasses وأعضاء الجسم والدم ومنتجاته والإفرازات secretions والمنتجات الحيوانية الملوثة ومخلفات أماكن تربية الحيوانات. كل هذا يعرض الإنسان العادي والباحثين والدارسين ومستخدمي حيوانات التجارب للعوامل الوبائية التي تنتقل من الحيوان للإنسان zoonotic infectious agents.

٥. الأدوات الحادة المستخدمة Used sharps :

هذه الأدوات تشمل الإبر needles والسرنجات syringes وأنابيب باستير pasteur pipettes والأنابيب الزجاجية والشرايح الزجاجية وأغطيتها slides and cover slips وشفرات المشارط scalpel blades. حيث تستخدم هذه الآلات الحادة بالضرورة في المستشفيات ومعامل الجامعات ومعامل التحاليل الطبية وفي الشركات الصناعية ذات الصلة.

## طرق التخلص من المخلفات البيولوجية الضارة

### DECONTAMINATION OF BIOHAZARDOUS WASTES

بداية يجب أن يوكل هذا الأمر إلى واحد من مشرفي المعامل ذوي الخبرة في هذا المجال على أن يكون هذا الشخص ملماً بأنواع المخلفات ومدى خطورتها على البيئة والصحة العامة.

يجب أولاً عزل (فصل) المخلفات الخطرة والمعدية and infectious biohazardous wastes عن المخلفات العامة الأخرى وتستخدم ثلاثة أنواع من الحاويات لذلك، على أن تخصص هذه الحاويات safety containers كما يلي:

(أ) حاوية للألات الحادة used sharps.

(ب) حاوية للسوائل (الأكثر من ٢٠ مل) fluids.

(ج) حاوية للمخلفات المعدية الأخرى other infectious wastes.

مع مراعاة وضع علامة الخطر البيولوجي المعروفة عالمياً universal biohazard symbol على كل حاوية.

كذلك يجب أن تتميز الحاويات بالمتانة وعدم قابليتها للكسر ومقاومتها للتشقق، وأن تكون محكمة الغلق مميزة اللون (حمراء أو صفراء)، مع تجنب تراكم المخلفات فيها. علماً بأن معظم المخلفات الملوثة الناتجة من المعامل يجب إعدامها باستخدام عملية التعقيم في جهاز الأوتوكلاف autoclaving قبل وضعها في صناديق (حاويات) النفايات.



(شكل ٥٥)

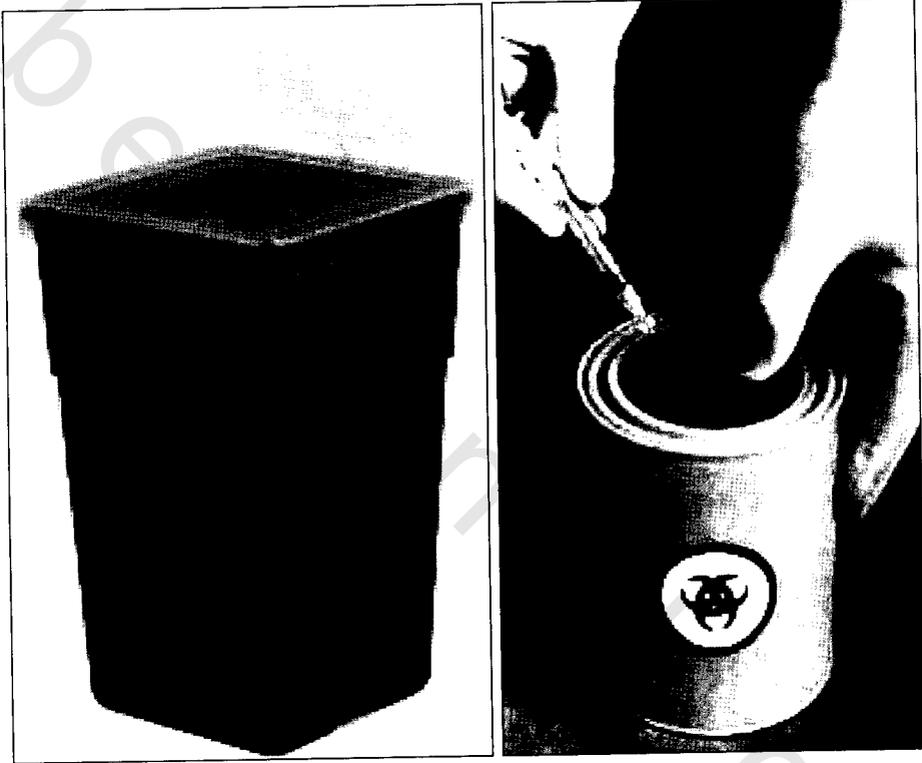
علامة الخطر البيولوجي

Biohazard symbol

بالنسبة للآلات الحادة توضع في حاوياتها sharpsafe containers وهي ذات صفات خاصة تزيد عن المواصفات العامة المذكورة سابقاً بأنها قابلة للتعقيم autoclavable والحرق incinerable دون تصاعد أي أبخرة سامة، ذات صمام لإدخال الآلات الحادة منه، ومقاومة لطبيعة هذه الآلات، وبمجرد امتلائها يقفل الصمام نهائياً ثم تعقم في الأوتوكلاف. أما بالنسبة للسوائل (الأكثر من ٢٠ مل) يمكن إزالة تلوثها decontamination بالتعقيم في الأوتوكلاف أو بإضافة مواد كيميائية مطهرة مناسبة disinfectant، ثم تلقى مع تيار ماء (كمية كبيرة) في خط الصرف الصحي.

يراعى إلقاء الحاوية في حاوية المخلفات الأخرى إذا كانت من النوع غير قابل للاستخدام أكثر من مرة disposable أو تعقيمها في الأوتوكلاف واستعمالها مرة أخرى.

وبالنسبة للمخلفات المعدية الأخرى (مثل المزارع الميكروبية القديمة في أطباق بتري) فيمكن وضعها مباشرة في أكياس بلاستيكية مصنوعة من مادة polypropylene مقاومة للحرارة وتحمل ظروف التعقيم في الأوتوكلاف autoclavable bags ، ثم تعقم الأكياس في الأوتوكلاف قبل وضعها في الحاوية.



(شكل ٥٦)

أشكال مختلفة لحاويات الآلات الحادة sharpsafe containers

ومن الوسائل الأخرى المستخدمة للتخلص (إعدام) من المخلفات البيولوجية:

المدافن landfill:

تنتشر طريقة دفن النفايات في بعض بلاد العالم الثالث ولهذه الطريقة مخاطرها على البيئة وصحة الإنسان فهي تلوث التربة والمياه الجوفية والزراعية وبالطبع ولهذا يجب اختيار المكان المناسب والبعيد عن العمران.

#### الحرق Incineration :

وقد تكون هذه الطريقة مناسبة للتخلص من النفايات حيث تستخدم محارق خاصة محكمة الإغلاق. من سلبيات هذه المحارق تصاعد الأدخنة الملوثة للهواء وصعوبة صيانتها وعدم وضع الرقابة اللازمة عليها.

obeikandi.com

## المراجع

obeikandi.com

## المراجع العربية

- الخليفة، محمد صالح والصالح، عبد العزيز عبد الرحمن (١٩٩٥).  
المجاهر وتقنياتها. عمادة شئون المكتبات. الرياض. جامعة الملك سعود.
- البنهاوي، محمود أحمد والجنزوري، منير علي (١٩٨٩). التقنية المجهرية  
إعداد التحضيرات الميكروسكوبية. القاهرة. دار المعارف.
- عبد المجيد، التهامي محمد (١٩٩٤). دليل الطالب العملي لعلم  
الأنسجة. عمادة شئون المكتبات. الرياض. جامعة الملك سعود.
- الموجي، كامل محمود وحامد، جمال الدين وأبا الخيل، عبد الرحمن  
المهنا (٢٠٠٣). الكتاب العملي في علم الأحياء الدقيقة. الرياض. مكتبة  
الرشد.
- أبو زنادة، عبد العزيز حامد والجوهري، محمود محمد (١٩٨٠). المجهر  
والبنىات الدقيقة. الرياض. جامعة الرياض.
- المختار، كواكب عبد القادر والعلاف، سهيلة محمود والقطار، عدنان  
عيد الأمير (١٩٨٢). التحضيرات المجهرية. بغداد. وزارة التعليم العالي  
والبحث العلمي.

## المراجع الأجنبية

- **Hunter, Elaine E. (1984).** Practical electron microscopy New York, London. Praeger publishers.
- **Racker, Darlene K. (1986).** Transmission electron microscopy method of application. Chicago. Charlis C Thomas publishers.
- **Abd El-rahman, Ashraf Abd El-rahman (1988).** Studies on the innervation of Guinea pig adrenal medulla and para-aortic body. Thesis submitted to the university of Nottingham.
- **Bancroft, John D. and Gamble, Marilyn (2002).** Theory and practice of histological techniques. London. Churchill Livingstone.
- **Lewis, P. R and Knight, D. P. (1977).** Practical methods in electron microscopy. Amsterdam – New York – Oxford. North-Holland publishers.
- **Pease, d. c. (1964).** Histological techniques for electron microscopy. London – New York. Academic Press.
- **Tribe, M., Erant, M. R. and Snook, R. (1995).** Light microscope. Cambridge. Cambridge university Press.
- **Barrenett, R. J., Perney, D. P. and Hagstom, P. E. (1964).** Additional new alhyde fixatives for histochemistry and electron microscopy. London.