

٧ . لصق القطاعات على الشرائح

Affixing paraffin sections to the slide

يراعى فى البداية تجهيز شرائح نظيفة تماماً ومحفوظة فى كحول ٩٥ ٪ وتجفف بقطعة من القماش الذى لا يترك أوباراً (قطعة من التريكولين أو الحرير) ويستعمل فى عملية اللصق أحد المحاليل الآتية :

(١) محلول ماير Mayer's adhesive

ويحضر بالطريقة الآتية :

زلال بيض Egg white ٥٠ مل

جلسرين Glycerine ٥٠ مل

فينول Phenol crystals ١ جم

يمكن استعمال ساليسلالات الصوديوم أو ثايمول بدلاً من الفينول .

يستعمل بيض طازج - يفصل الزلال ويضاف الجلسرين والفينول ويرج جيداً حتى يتكون عدد كبير من فقاعات الهواء . يترك المحلول مدة لترتفع فقاعات الهواء إلى السطح فترتفع معها المواد الغريبة ويصبح المحلول نقياً صافياً - يزال الريم الذى يتكون على السطح ويرشح المحلول فى قماش موسلين . يجدد المحلول كل ستة أشهر . ويستعمل معه الماء لتعويم الأشرطة .

هناك تركيبة أخرى يدخل فيها الألبومين كأساس ، ويستعمل منها خليط جاهز يسمى ألبوزول Albusol ، وتركيب المحلول اللاصق كالاتى :

ألبوزول ٥ مل

ماء مقطر ١٨٥ مل

فورمالين ١٠ مل

ويجدد هذا المحلول شهرياً .

(٢) محلول هاوبت Haupt's adhesive

ويحضر كالآتى :

جيلاتين	١ جم
ماء مقطر	١٠٠ مل
جلسرين	١٥ مل
فينول بللورات	٢ جم

يذاب الجيلاتين فى الماء على درجة حرارة 35°C م وعند تمام الذوبان يضاف الفينول ثم الجلسرين ويقلب جيداً ثم يرشح . ويستعمل محلول فورمالين ٢ - ٤ ٪ لتعويم أشرطة الشمع .

يوجد تركيب آخر يدخل فيه الجيلاتين كأساس ، ويحضر كالآتى :

جيلاتين	١ جم
ماء مقطر	٩٠ مل
فورمالين	١٠ مل

يقوم هذا المحلول بتعويم الأشرطة ولصقها فى نفس الوقت ويحضر شهرياً .

خطوات العمل

(١) يقطع شريط الشمع إلى أشرطة قصيرة مناسبة الطول تتناسب مع طول الأغشية ، التى تستعمل فى التحميل ، ويفضل أن لا يزيد طولها عن ٤ سم .

(٢) توضع نقطة من محلول ماير أو هاوبت على الشريحة ويدهن بها السطح بتمرير إصبع نظيف عدة مرات وإزالة الزائد من المحلول ؛ حتى لا يتبقى على سطح الشريحة إلا طبقة رقيقة جداً متجانسة منتظمة الانتشار .

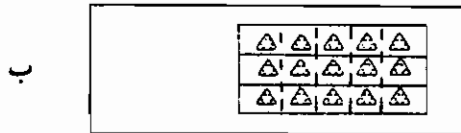
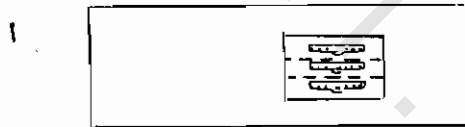
(٣) تنقل القطاعات أو الأشرطة المجهزة إلى الشريحة ، وتضاف عدة قطرات من الماء المقطر أو فورمالين ٢ - ٤ ٪ حسب المحلول المستعمل فى اللصق وتحرك الشريحة قليلاً حتى ينتشر الماء أو الفورمالين على السطح فتطفو عليه الأشرطة .

(٤) تسخن الشريحة على لوحة ساخنة حتى تنبسط الأشرطة ، ويزول كل أثر لانكماشها وتجعلها ويجب ألا تسخن إلا بالقدر اللازم لإزالة الإنكماش والتجعد ، ولا يجب أن تصل الحرارة إلى درجة انصهار الشمع فإن ذلك يتلف الأنسجة .

(٥) يزال معظم الماء أو الفورمالين الزائد بإمالة الشريحة ولمس حافتها التي اتجه إليها السائل بقطعة من النشاف أو ورق الترشيح . ثم تنظم القطاعات أو الأشرطة بإبرتين في الوضع المناسب ، ويزال ما تبقى بواسطة ورقة نشاف أو ترشيح بحيث تصبح الشريحة جافة تماما وإلا فإن الماء أو الفورمالين مع اللاصق المستعمل يأخذ الصبغة ويشوه الشريحة .

(٦) توضع الشريحة بعد ذلك في مكان دافئ غير معرض للغبار كالطابق العلوى من فرن الشمع لمدة لا تقل عن أربع ساعات للأنسجة الرهيفة ، ولا تقل عن ١٢ ساعة للأنسجة البالغة أو الصعبة اللصق .

(٧) يجب أن يكون التصاق شريط الشمع بسطح الشريحة تاما ، لا تتخلله فقاعات من الهواء وإلا فإن القطاعات تكون عرضة للسقوط أثناء معاملتها فى محاليل الصبغ المختلفة . ولا ضرر هناك من حفظ الشرائح بعد لصق القطاعات وتجفيفها أى مدة من الزمن حتى تصبغ .



شكل (٧-١) : نظام لصق القطاعات على الشريحة .

أ - غطاء شريحة مربع . ب - غطاء شريحة مستطيل .

إزالة الشمع Deparaffinize

يلزم بعد لصق القطاعات على الشرائح الزجاجية أن يزال الشمع حتى يمكن القيام بالعمليات التالية من صبغ وتجهيف وترويق وتحميل .
وتجرى العملية كالآتي :

- (١) تغمس الشرائح فى وعاء به زيلول نقى لمدة ١٠ - ٢٠ دقيقة .
 - (٢) تكرر عملية الغمس فى وعاء آخر به زيلول نقى لمدة ٥ دقائق .
 - (٣) تنقل الشرائح بعد ذلك إلى وعاء به ٥٠٪ زيلول لمدة ٥ - ١٠ دقائق .
 - (٤) يتم نقل الشرائح بعدها إلى وعاء به كحول مطلق لمدة ٥ دقائق .
 - (٥) تكرر عملية النقل إلى وعاء آخر به كحول مطلق لمدة ٥ دقائق .
- يواصل التدرج حتى التركيز المناسب للصبغة ، فإذا كانت الصبغة مذابة فى كحول ٥٠٪ مثلاً يتم التدرج بالشرائح إلى كحول ٧٠٪ ثم تنقل بعد ذلك إلى الصبغة المذابة فى كحول ٥٠٪ . أما إذا كانت الصبغة مذابة فى الماء فتدرج بالشرائح إلى الماء ثم إنقلها إلى الصبغة . أى بعبارة أخرى تدرج بالشرائح إلى تركيز معادل لتركيز المذيب للصبغة أو للخطوة السابقة مباشرة لتركيز مذيب الصبغة .
- يمكن أن يحل الأسيتون أو كحول الأيزوبروبائل محل كحول الإيثايل بعد إذابة الشمع .

لصق القطاعات التى تعمل باليد أو بالميكروتوم الثلجى أو المنزلق

يمكن لصق القطاعات على الشرائح قبل صبغها حتى يسهل إجراء عملية الصبغ وحفظها من التلف الذى قد يصيبها أثناء الخطوات المختلفة حتى التحميل ، ويستعمل فى ذلك محلول جيلاتين فولز ويتكون من :

جلياتين + حامض خليك ثلجى + ٧٠٪ كحول + شب الكروم

طريقة تحضيره :

يذاب ٤ جم من الجيلاتين فى ٢٠ مل من حامض الخليك الثلجى على حمام مائى ،

مع التقليب . يؤخذ من هذا المحلول ٥ مل ويضاف إليها ٧٠ مل من كحول ٧٠٪ ثم يضاف ١ - ٢ مل من محلول شب الكروم الذى قوته ٥٪ ، ادهن الشرائح بالخليط ، ثم تترك لتجف وبذا تحتفظ بقابليتها للانتفاخ واللتصق فى وجود الماء . انقل القطاعات إلى الشريحة وذلك بتغطيس الشريحة فى طبق البترى تحت القطاع ، ثم ترفع الشريحة برفق وعليها القطاع فى المنتصف ، يضغط عليها بورقة ترشيح مبللة برفق حتى يتم اللصق ، ثم تترك فى الغرفة العلوية من الفرن لتجف .