

الفصل الثاني : التخدير والتثبيت

التخدير (مهم) اذكر وظيفة كل من :

❖ طرق التخدير مع وظيفة كل مخدر :

١ . كحول ١٠% : ينصح به لتخدير حيوانات الماء العذب وعلى وجه الخصوص مع الهيدرا والتربلاريا .

٢ . كلوريد الماغنسيوم : يستعمل لتخدير الحيوانات البحرية بما فيها الطرز الجالسة مثل الشعاعيات

٣ . كبريتات الماغنسيوم : تخدير الحيوانات اللافقارية التي تعيش في الماء المالح او العذب

٤ . بخار الأثير : يستخدم لتخدير الحشرات والعناكب وكذلك مع الفقاريات الارضية.

٥ . كلوريتون : يستخدم لتخدير اللافقارية بصفة عامة.

٦ . الاختناق : يستعمل لتخدير البطنقديمات عن طريق غلي كمية من الماء لطررد الهواء ثم يغلق الوعاء ، وبعد ان يبرد توضع فيه القواقع

في حالة الحيوانات الثديية كبيرة الحجم مثل: الكلاب والقطط ، ومن المستحسن تخدير الحيوان بواسطة الاثير او الكلوروفورم ثم ذبح الحيوان وهو مخدر .

❖ **يراعي عند نزع العضو من الحيوان اعتبارات ، ماهي ؟**

- ١) يجب نزع العضو من جسم الحيوان وغسله في المحلول الفسيولوجي لإزالة الدم العالق به لأن الدم يعيق عملية التثبيت. **(بما تفسر)**
- ٢) ألا يعرض العضو الا لأقل ضغط عليه عند الإمساك به.
- ٣) ألا يسمح ابدا بجفاف العضو في الهواء.
- ٤) ان يستخدم مشرط او موس حاد لقطع العضو الى اجزاء صغيرة مناسبة ذات اسطح مستوية لا يزيد سمك الجزء عن نص سم في المتوسط .

بما تفسر / يجب نزع العضو من جسم الحيوان وغسله في محلول فسيولوجي

لإزالة الدم العالق به لأن الدم يعيق عملية التثبيت

❖ **اذكر شروط المثبت الجيد : (مهم)**

١. ان يتخلل النسيج بسرعة
٢. يحول المحتويات النسيجية الى مواد غير ذائبة
٣. يحمي النسيج من الانكماش او التثوه
٤. يعطي النسيج درجة من الصلابة

❖ **ماهي العوامل التي يعتمد عليها وقت التثبيت ؟ (مهم)**

(نوع النسيج وسمك العينة) (عمر الحيوان) (نوع المثبت نفسه)

ماهي العوامل التي يجب مراعاتها عند التثبيت؟

١. وضع النسيج بسرعة في المثبت
٢. استخدام كمية مناسبة من المثبت لا تقل عن ٢٠ ضعف حجم قطع النسيج
٣. رج زجاجة المثبت عدة مرات اثناء فترة التثبيت

❖ اذكر استخدام و عيوب لكل من المثبتات (مهم)

(١) مثبت ألتمان :

- مثبت جيد للدهون والحبيبات السبحية (الميتوكوندريا) .

العيوب /

- غالي التكلفة بسبب احتوائه على حمض الازوميك .
- غير جيد في تخلله للأنسجة إنه يجعل الانسجة هشة مما يسبب في صعوبة تقطيعها بالميكرو توم .
- مدة التثبيت ١٢ ساعة عادة ، ويجب بعد ذلك غسل العينة جيدا بالماء لإزالة الزائد من حمض الازوميك.

(٢) محلول بوان :

- يعتبر من اشهر المثبتات للأنسجة ، كما يستخدم للكشف عن الجليكوجين

العيوب /

- مدة التثبيت ٢٤ ساعة ، ويسبب حمض الخليك تلون العينة بالون الاصفر.

بما تفسر / لا ينصح باستخدام محول بوان لحفظ مادة DNA ؟

لأنه يسبب تكسر جزيئاتها كما لا ينصح به لإظهار المحتويات السيتوبلازمية بسبب احتوائه على حمض الخليك .

(٣) مثبت تشامبي :

- يعتبر مثبت جيد للحبيبات السبحية (الميتوكوندريا) والدهون والحيوانات الاولية .

العيوب

- قدرته على التخلل محدودة .
- وهو مكلف ماليا بسبب احتوائه على حمض الازوميك ، ويراعي غسل العينة بالماء بعد التثبيت .

٤) رابع اكسيد الازوميوم :

- يستخدم ٢% من محلول رابع اكسيد الازوميوم لتثبيت الحيوانات الالوية ، ويمكن استخدام بخار هذه المادة لنفس الغرض

٥) مثبت رامون ياكاهال :

- يستخدم مع جهاز جولجي عادة .

٦) محلول زنكر (زنكر اسيتيك) :

- مثبت ممتاز للأنسجة بصور عامة .

العيوب /

- لا يحفظ خلايا الدم الحمراء بصورة جيدة .
- مدة التثبيت ٢٤ ساعة .
- يجب ازالة الزيادة من بيكرومات البوتاسيوم وكلوريد الزئبق من النسيج بعد التثبيت .

٧) مثبت سنا :

- يستعمل مع الحشرات يعمل على تلين الاجزاء الجامدة مع عدم الاضرار بالأحشاء الداخلية وبعده تنقل العينة الى ٩٥% كحول .

٨) محلول سوزا : (هايدن هان)

- مثبت جيد ذو درجة عالية من القدرة على تخلل الانسجة ، لا يسبب جفاف العينة

العيوب

- لا يحفظ خلايا الدم الحمراء بصورة جيدة .
- لا ينصح استعماله مع طريقة فاريجرت لصبغة الالياف المرنة .
- مدة التثبيت ٢٤ ساعة ، يجب ازالة كلوريد الزئبق من النسيج .

٩) الفور مالين :

- يستخدم منفردا كمتثبت في تحضيرات التحمل الكامل وفي تثبت الانسجة العصبية والمواد الدهنية
- لا ينصح باستخدام الفورمالين منفردا كمتثبت للأنسجة او المواد الاخرى .

(١٠) محلول كارنوى :

- يعتبر مثبت جيد للأحماض النووية والبروتينات واجسام نسل والجليكوجين
- العيوب / لا يثبت خلايا الدم الحمراء بصورة جيدة

(١١) الكحول :

- يستخدم الكحول الإيثيلي منفردا في حالة اذا تريد تجنب المثبتات الاخرى لأي سبب من الاسباب ، كما يستخدم عندما تكون المادة المراد فحصها في النسيج تذوب في الماء مثل الجليكوجين . مدة التثبيت ٢٤ ساعة .
- العيوب / انه يسبب بعض الانكماش والجفاف للأنسجة .