LABORATORY TECHNIQUES

تقنيات مختبرية

SAFETY IN THE LABORATORY
AND
LABORATORY RULES

السلامة والامان
في المختبر والقواعد
المختبرية

تحديد وتقييم المخاطر IDENTIFY AND EVALUATE HAZARD

- تتمثل الخطوة الاولى للعمل في المختبر بتحديد وتقييم المخاطر في مكان العمل فعدم دراسة ذلك قد يؤدي الى جعل المهمة صعبة خاصة عند استعمال الكواشف الكيميائية او التعامل مع مواد كيميائية غير موسومة .

- ومن الضروري التخلص من كل ما هو غير معلوم وغير معروف من مواد كيمياوية او حتى تلك المواد الكيمياوية المكشوفة .

- ومن المخاطر التي تواجه الباحث في المختبر ايضا هي المخاطر ذات المصدر الكهربائي و الميكانيكي و البايولوجي .

- ومن المخاطر التي يجب مراعاتها هو تقييم شدة المادة المستعملة وخطورتها كي نتصور حجم الخطر الذي من الممكن التعرض له كما يجب معرفة مقدار التعرض او التعامل اليومي وزمنه مع تلك المخاطر لاسيما اذا كانت مواد كيمياوية مسرطنة وذات تأثير بعيد المدى او متراكم

- كما يجب التعامل مع تلك المخاطر في مختبر مجهز بنظام تهوية جيد

- ويعد التخلص من تلك المواد او انسكابها في المختبر ايضا من المخاطر التي تواجه الباحث خلال عمله المختبري فعند انسكاب خمية كالونات من الفورمالين على سبيل المثال في مخنبر التحضيرات المجهرية يختلف عن انسكاب 30 مل منه
- او عند تفريغ العديد من العيانات الصغير المحفوظة في الفورمالين في السنك يعرض الباحث الى الخطر الشديد

Plan to minimize risk

- بعد تحديد المخاطر التي من الممكن التعرض لها اثناء اجراء الدراسة المختبرية يمكن وضع خطة للحد من تلك المخاطر ويجب الانتباه الى كل المخاطر دون اهمال اي منها واعطاء الاولوية الى الاخطر فلأخطر

- ويجب الانتباه الى توفر مواد تقلل من تفاقم الخطر عند حدوثه مثلا الحريق والتماس الكهربائي ومفرغات الهواء ومخارج الطوارئ

- كما يجب استعمال معدات الحماية الشخصية مثلا الكمامات والاقنعة والصدرية والكفوف والنظارات وغيرها

- ومن الطرق لتقليل المخاطر هي جرد بكل المواد المختبرية وكميتها ومقدار استعمالها وتاريخ دخولها الى المختبر ومن المعروف ان مختبرات المختصين في الباثولوجي والهيستوباثولوجي وعلماء الطب الحيوي لاتخلو من اي من المواد الخطرة مثلاالزايلين البنزين الديوكسان الكلوروفورم ميثاكرليت حامض البكرك نترات اليورانيل والفورملديهايد فلو يتم اختصار نوعها وكميتها الا عند الضرورة

- وقد اخذت المواد الكيميائية الخطرة على محمل الجد لذلك دئب الباحثون على استبدالها بمواد اكثر امنا و متفوقة تقنيا لذلك ينصح باستعمالها مثلا مواد التحضيرات المجهرية ومنها مواد الترويق و الانكاز histocleare وهو بديل لمواد الترويق بطعم ورائحة البرتقال والموز والتفاح اضافة الى دخول الصبغات الحيوية الصديقة للانسان ومنها الشوندر وغيرها

- ومن الامور التي تحد من المخاطر هي حجم المثبت الذي يتناسب مع حجم العينة ونوعيتها

TRAINING PESONAL

- التدريب الشخصي عادة يتم ادخال العاملين في المختبرات اولا في دورات تطويرية وتدريبية وهذا متبع في العديد من بلدان العالم المتطورة اذ عادة يكون الاشخاص المدربين اكثر امنا وسلامة اضافة الى كفائتهم في العمل ويكونون اقتصاديين

- كما يجب ارشاد العاملين الى خطورة المواد التي يتعاملون معها مثل المواد المسرطنة و الفورملديهايد ويجب ان يسجل ان العامل في المختبر قد اجرى التدريب الكامل و تلقى النصح والارشاد ويسجل ذلك في ملفته الشخصية وتعطى شهادة بذلك التدريب

TYEP OF HAZARD

- يجب وضع قائمة بالمواد الخطرة وتصنيفها حسب شدة خطورتها وقد لايوجد نظام واحد يشمل جميع البلدان بالنسبة الى ذلك التصنيف ليشمل كل المواد والذي يجب ان ياخذ بنظر الاعتبار هو مقدار احداث الضرر الذي تتعرضه الانسجة جراء التعامل مع تلك المواد

المواد البولوجية المضرة BIOHAZARD

يطلق على العينات والكائنات الحية ومحاليلها عوامل مضرة احيانا عندما تكون معدية للبشر وهذا مايطلق عليه المواد البيولوجية المضرة

المهيجات IRRITANTS

المهيجات والمواد الكيمياوية المسببة للالتهاب والتي عند تماسها مع الجلد او الانسجة والعين والجهاز التنفسي تسبب اضرار للانسان كما يمكن ان تسبب تهيجا للجهاز المناعي وتحفيزا له لذلك يوصى بتجنبها قدر الامكان

المواد المسببة للتاكل CORROSIVE CHEMICALS

وهذه قد تسبب اضرار مادية وصحية لاسيما عند تعرض الانسجة الحية لها ومن المحتمل ان تسبب باضرار لارجعة فيها اي دون القدرة على اصلاح الضرر وقد تسبب هذه المواد تاكل وتدمير للمواد الاخرى وهذه عادة مواد كيمياوية ايضا

المواد المسرطنة CARCINOGINIC

كثير من المواد التي يتعامل بها الباحثون في المختبر تعد مسرطنة او محثة على تكوين الاورام فاحيانا يتم تعريض الحيوانات المختبرية الى تلك المواد دون وعي وغالبا بدون اتخاذ مبتدئ السلامة والامان المعروفة
ومنالمعروف ان الشركات والوكالات تختلف شيئا ما في تحديد معايير الموادا المسرطنة وتحديدها

وهناك العديد من المواد المستعملة في مختبرات الانسجة والاجنة والامراض النسجية وغيرها تستعمل تلك المواد وهي قد حددت على انها مواد مسرطنة او حاثة للسرطان ومنها الكلوروفورم حامض الكروم ديوكسان و الفورملديهايد و كلوريد النيكل و ثاني كرومات البوتاسيوم اضافة الى العديد من الصبغات ومنها and BASIC FUCHIN and PONCEAU 2R AND

CHLORAZOL BLACK E and و الصبغات المشتقة من البنزين

وهناك قائمة بالعديد من المواد التي يتم التعامل بها في مختبرات علوم الحياة ولاسيما مختبرات الاسنجة والاجنة والامراض النسجية صفحة 25

طرق تحضير المقاطع النسجية

طريقة شمع البرافين

التثبيت بالمثبتات الخاصة وحسب المطلوب دراسته

الغسل بالماء او بالكحول حسب المثبت

الانكاز

الترويق

التشريب

الطمر

التقطيع

التسطيح والتحميل

التصبيغ

الحصول على مقاطع متسلسلة عادة في الدراسات النسجية والجنينية والامراض النسجية

FIXATION OF SMALL ANIMAL TISSUES FOR HISTOLOGY

The preparation of tissues for histological examination is more complex than often appreciated

The quality of sections and stains can be influenced by many factors. Although some factors involve the processes of paraffin embedding, sectioning, or staining in the histology lab; many others are related to prior tissue handling.

FIXATION

fixation is the single most important determinant of high quality histological sections

problems related to the quality of stained sections are more often related to inadequate fixation than to problems with processing and embedding

Most sectioning artifacts can also be attributed to problems with fixation

The following information is provided for lab staff and trainees who may not have prior training in histology.

FIXATION WITH FORMALIN

The most widely used fixative for routine histology is 10% neutral buffered formalin (NBF, approximately 4% formaldehyde).

This fixative can effectively prevent autolysis and provides excellent preservation of tissue and cellular morphology

with paraffin embedding, including immunohistochemistry

Important Variables

many variables must be carefully controlled to insure consistency and reproducibility of fixation

THESE INCLUDE THE:

- **time interval between tissue harvesting and fixation,**
- **composition of the fixative**
- **volume ratio of tissue to fixative**
- **duration and temperature of fixation**
- **tissue thickness**
- **conditions of any post-fixation storage**
- **the interval between fixation and embedding**

Fixative Volume

EMBEDDING

PARAFFIN EMBEDDING

GELATIN EMBEDDING

NITROCELLULOSE EMBEDDING

PLASTIC EMBEDDING

POLYETHYLEN GLYCOL EMBEDDING

POLYESTER WAX EMBEDDING

طريقة المقاطع المجمدة

لايستعمل هنا ازالة الماء ولا الترويق ولا الطمر باوساط الطمر السابقة

وتستعمل لتوضيح المواد الذائبة والدراسات الكيميائية النسجية والكيميائية المناعية واثناء اجراء العملية الجراحية حيث لايزال المريض في صالة العمليات

طريقة المقاطع المجمدة

عينة مثبتة او طرية

التثبيت عادة بالتجميد على درجات حرارة منخفضة تصل الى -170 سليزي جدا لتقليل الضرر ويستعمل النيتروجين السائل او الايزوبنتان لذلك

توضع عليها مادة الطمر وهي مجموعة من الاوساط اشهرها OCT or TBS

ثم تثبت على حامل معدني وتوضع في الجهاز

ويستعمل الرذاذ sepraلتسريع عملية التجميد اوالنتروجين السائل ايضا

تثبت درجة حرارة الجهاز حسب نوع النسيج والخبرة