5. يستخدم في حالات العظام .
6. يستعمل أكثر في حفظ عينات الخصية.

- محلول حمض الاوزميك Osmic acid :

. محلول حمض الأوزميك ويستعمل بتركيز 2 % كصبغة.

مميزاته:

1. يستعمل في تثبيت العينات الدهنية .
2. مثبت وصبغة.
3. يستعمل في الأبحاث عن وجود أجسام جولوجي.

- محلول سوسا: Sossa solution عيوبه

إذا ترك النسيج لفترة طويلة أكثر من 24ساعة يتصلب.

يزيل قليل من التكلسات الموجودة في النسيج.

مميزاته:

وجود Tri Chloro Acidic Acid

- محلول كلارك Clarck مميزاته:

1. يستخدم أكثر في المسحات.
2. مثبت جيد للنواة وقوة حفظه للسيتوبلازم.

- محلول كارنوي Carnoy مميزاته:

1. مثبت سريع .لمدة 1 ساعه
2. يستخدم في تحضير العينة السريعة

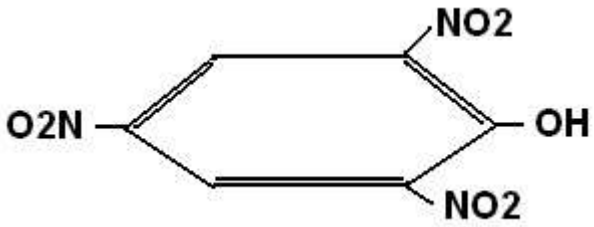
عيوبه:

غالي الثمن.

- مثبت روسمان Rossman's fixative:

من المثبتات التي تحتوي على حمض المر Picric acid

- مثبتات جيدة لتثبيت بروتينات الخلية
- تحتوي على حمض المر وهو ثلاثي نتريت الفينول



- تركيبه:
- **Rossman's fixative Absolute ethyl alcohol saturated with picric acid 90 ml + 10 ml Formalin 40% .**

عيوبه:

غالي الثمن.

3. عملية الغسل Washing :

يجب غسل العينة بعد التثبيت و ذلك لإزالة ما تبقى من أثر المثبت على العينة

العينات المثبتة في مثبت بوان بالكحول 70 % حتى يزول اللون الأصفر.

. تغسل العينات المثبتة في زنكر بالكحول 96 % مشبع باليود ومدة الغسيل تتراوح من 5 – 8 ساعات .

. العينات المثبتة في مثبت روسمان تغسل بالكحول 96 %

. العينات المثبتة في الفورمالين تغسل بماء الصنبور الجاري لمدة 24 ساعة .

4.عملية نزع الماءDehydration:

وهي الطريقة التي يتم بواسطتها إحلال مادة محل الماء الموجود في النسيج هذه المادة تذوب فيها المحاليل و المواد المستعملة في الخطوات القادمة مع عدم تشويه النسيج و تتم هذه العملية بتمرير العينة في سلسلة متدرجة الارتفاع في التركيز من الكحول الإثيلي لمنع انكماش الأنسجة في حالة لو وضعت في كحول مطلق مباشرة ويفضل الكحول لأنه يمتزج بسهوله مع الماء و مع مادة الزايلول المروقة والتي بدورها تمتزج جيدا مع مادة الطمر البرافينية.

الماء لا يمتزج مع شمع البرافين لذلك يجب التخلص من الماء الموجود في النسيج الخلوي حتى تسهل عملية نفاذ البرافين المصهور إلى داخل الأنسجة وتتم عملية نزع الماء بتمرير العينة على سلسلة متدرجة الارتفاع في التركيز من محاليل الكحول الايثيلي وتتراوح المدة اللازمة لترك العينة في كل خطوة من خطوات نزع الماء في محاليل الكحول المختلفة التركيز من 30 دقيقة إلى ثلاث ساعات كحد أقصى ويفضل أن تمرر العينة في مراحلها الأخيرة من خطوات نزع الماء على محلولين منفصلين من الكحول المطلق ولمدة تتراوح من ساعتين إلى ثلاث ساعات في كل مرة وذلك لزيادة التأكيد من تمام نزع الماء من العينة .

عند تحضير سلسلة كحول متدرجة التركيز يفضل استخدام 95 % كحول ايثيلي بدلا من الكحول المطلق ومنه تعمل التركيز المطلوبة فلكي نحضر محلول بتركيز 70 % نأخذ 70 مل من محلول الكحول 95 % ونضيف إليه 25 مل من الماء المقطر ليكون التركيز النهائي من الكحول 95 % .

5. *عملية الترويق* Clearing :

العملية التي بو اسطتها يتم إحلال ماده محل مادة نزع الماء حيث تقوم هذه العملية بالسماح لمادة شمع البرافين بالدخول إلى الأنسجة في الخطوة اللاحقة لأن الكحول المستخدم في نزع الماء لا يمتزج مع شمع البرافين لذا تستخدم ماده مروقه تذوب في الكحول وشمع البرافين وكذلك تجعل النسيج شفافا.

من أمثلة المواد المروقه (الزيلول – الكلورفورم – تولوين – بنزين– زيت خشب الأرز) .و عند استخدام الزيلول و التولوين يحدث أحيانا أن يتعكر لون محلول مادة الترويق و هذا دليل على عدم اكتمال نزع الماء من نسيج العينة في هذه الحالة يجب إرجاع العينة إلى سلسلة الكحولات للتأكد من عملية نزع الماء بشكل تام أما المدة الكافية لترك العينة في المحلول المروق فهذا يعتمد على نوع وحجم العينة فكلما زاد حجم العينة كلما زادت مدة الترويق.

الكحول لا يمتزج مع شمع البرافين لذا يعتبر محلول الزيلول من أنسب المحاليل المروقة لسهولة امتزاجه مع البرافين والكحول وهناك مواد يمكن استخدامها كمروقات مثل التولوين والبنزين والكلوروفورم ولكنها سريعة التطاير.

6. *عملية التشريب أو التخلل* Impregnation or Infiltration :

عبارة عن إحلال كامل للمادة المستخدمة في الطمر مكان المادة المروقة، و يعتبر شمع البرافين من أشهر المواد المستخدمة في تشريب النسيج حيث أنه يتخلل العينة بسرعة دون إحداث ضرر بتركيبها النسيجي،

كما أنه يكسبها دعامة قوية لتهيئتها للقطع بالميكروتوم، و يساعد على حفظها في الظروف العادية لفترة طويلة دون أي أذى.

وتتم العملية بتمرير العينة في مزيج متساوي من الشمع والمادة المروقة(1:1) ثم تنقل العينة إلى شمع البرافين المطلق المنصهر داخل الفرن و تكرر هذه العملية لعدة مرات(2– 3 مرات) كل مرة لمدة نصف ساعة، كما تعتمد عدد مرات تغيير الشمع حسب نوع العينة بحيث تقل كلما كانت العينة رخوة وتزداد كلما كانت العينة صلبة.

ويجب أن يراعى التالي:

– أن يتم التخلل لكامل أجزاء العينة ويحل محل المادة المروقة و إلا فإن عملية تحضير القطاعات ستكون غاية في الصعوبة.

– يجب أن يكون شمع برافين التخلل تام الانصهار (درجتان أعلى من درجة الانصهار) حيث يمتاز بنفاذية أسرع.

– يعتمد ز من التخلل على سمك و حجم العينة و يفضل ألا يزيد سمكها عن(5 مم) و ألا يزيد زمن تخلل عينات العضلات و الأنسجة الضامة عن ثلاث ساعات حتى لا يتسبب في صلابتها بينما يمكن أن تترك عينات الجلد والجهاز العصبي في الشمع المنصهر حتى ست ساعات.

– يجب ألا يقل حجم الشمع إلى حجم العينة عن عشرون ضعفا.

و يمكن في تقنيات أخرى استخدام مادة السللويدين(celloidin) في عملية التخليل كما يجب أن يكون الطمر بنفس المادة.

7. *عملية الطمر Embedding:*

وهي عملية الغرض منها عمل قالب من العينة بحيث تحيط بها المادة الطامرة وتدعمها و المواد المستخدمة على نوعين:

–بعضها يذوب في الأوساط المائية عند الحرارة المرتفعة مثل الآجارAgar و الجيلاتين و الشمع الكربوني Carbowax.

–البعض الآخر لا يذوب في الأوساط المائية مثل شمع البرافين و السللويدين و الميثاكريلات و شمع الإستر.

إلا أن البرافين أشهرها و أكثرها استخداما في معامل الأنسجة و كيمياء الأنسجة و شمع البرافين عبارة عن مادة هيدروكربونية ممزوجة بمواد بلاستيكية.