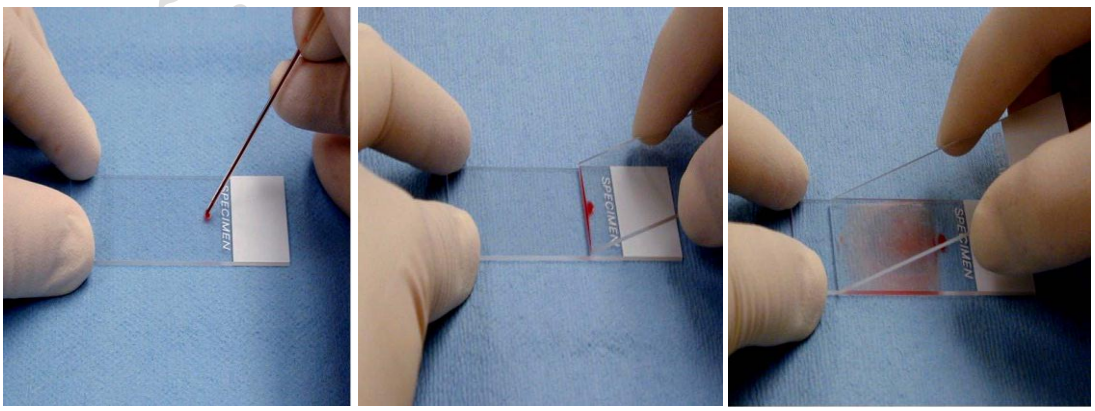
تحضير مسحة الدم في الطيور Preparation of the blood film

يجب عمل مسحات الدم باستخدام عينات الدم التي لا تحتوي على مانع تخثر أو EDTA. ويجب تجنب الهيبارين عند جمع عينات الدم hematological samples إذا كان ذلك ممكناً، نظراً لأنه يتداخل مع التصبيغ الملائم لخلايا الدم blood cells. يسبب الـ EDTA تحلل الدم hemolysis في عينات الدم التي يتم الحصول عليها من بعض مجاميع الطيور (مثل فصيلة الغربان Corvidae). التعريض المطول لـ EDTA ربما يسبب تبدلات اصطناعية في الخلايا cellular artifacts في دم بعض الطيور، لذلك يجب عمل مسحات الدم مباشرةً بعد جمع الدم عند استخدام مانع التخثر anticoagulant .

التقنية المثالية لأسفين الشريحتين الزجاجيتين standard two – slide wedge technigue التي تستخدم عادةً لتحضير الشرائح الزجاجية الخاصة بالثدييات يمكن استخدامها في تحضير عينات دم الطيور (صورة1). من ناحية ثانية، عند استخدام هذه الطريقة مع عينات دم الطيور فأنها تؤدي أحياناً إلى مقدار واضح من التمزقات الخلوية cellular ruptures عند تطبيق ضغط شديد على الشريحة الزجاجية الناشرة spreader slides . والاهتمام المناسب بالتقنية سوف يقلل إلى الحد الأدنى من حدوث الضرر للخلايا. قطرة صغيرة من الألبومين البقري المنقى purified bovine albumin يمكن أن تضاف إلى قطرة دم الطيور للتقليل من حدوث الأضرار للخلايا عند تحضير مسحات الدم.

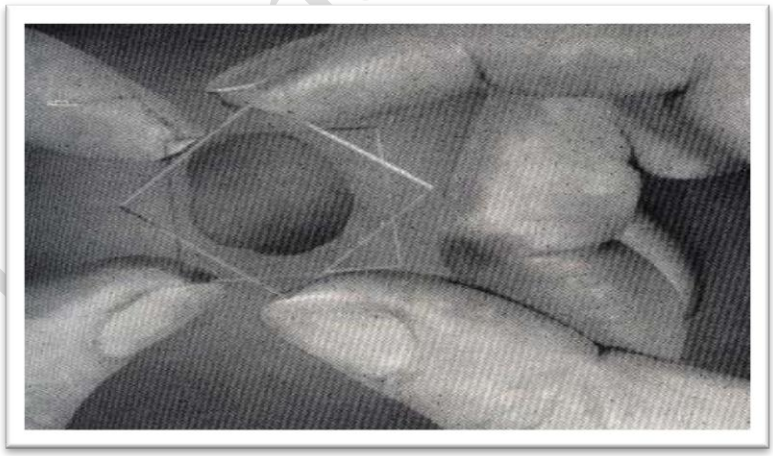


صورة 1 عمل مسحة الدم باستخدام شريحتين زجاجيتين

Dr. Samah Maiser

استخدام تقنية الشريحة الزجاجية والغطاء الزجاجي coverglass أو طريقة الغطائين الزجاجيين two – coverglass method سوف تقلل إلى الحد الأدنى من حدوث الأضرار للخلية وتحافظ على توزيع جيد للخلايا ومناطق أحادية الطبقات monolayer areas لغرض إجراء عملية الفحص examination. وتحتاج هذه الطريقة إلى شرائح زجاجية خاصة بالمجهر microscope slides وأغطية زجاجية مستطيلة الشكل (24 ملم × 50 ملم). يتم وضع قطرة دم على شريحة زجاجية نظيفة ويتم إسقاط dropping الغطاء الزجاجي فوق قطرة الدم مباشرةً. عندما تنتشر قطرة الدم بين الشريحة الزجاجية والغطاء الخارجي، يتم سحب الأثنان بعيداً عن بعضهما البعض وبصورة أفقية لتكوين مسحة الدم.

يجب عدم ترك قطرة الدم بالانتشار وصولاً إلى حافة الشريحة الزجاجية slide edgeقبل البدء بنشر المسحة film ، ويجب أن لا يتم سحب الغطاء الزجاجي بعيداً عن سطح الشريحة الزجاجية عندما يتم سحبه بعيداً عن الشريحة الزجاجية. طريقة الغطائين الزجاجيين two – coverglass method تكون مشابهة لطريقة الشريحة الزجاجية الخاصة بالمجهر والغطاء الزجاجي باستثناء استخدام غطائين زجاجيين في هذه الطريقة (صورة 2). تترك المسحات لتجف بالهواء air dry .



صورة 2 عمل مسحة الدم باستخدام غطائين زجاجيين

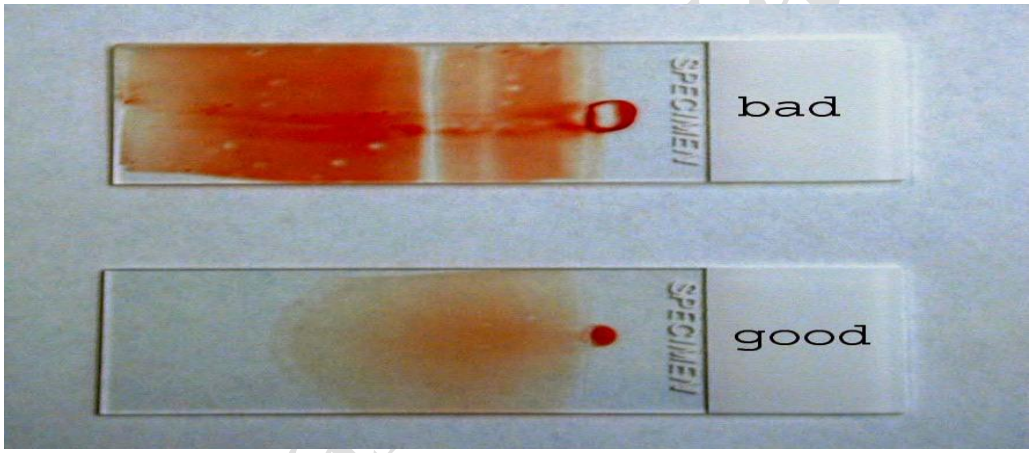
وبعدها يتم تثبيتها بكحول الميثانول لمدة 4 دقائق بعدها نتركها لتجف في الهواء للتخلص من الكحول ثم نقوم بتصبيغها stainin بصبغات خاصة معدة لهذا الغرض ، بالنسبة لمسحة دم الطيور يتم تصبيغها بصبغة Giemsa ، Wright's او Wright's – Giemsa، اذ يتم تفريغ الصبغة في وعاء التصبيغ (جار) ثم توضع السلايدات التي تم إجراء مسحة الدم عليها في

Dr. Iman Maiser

الجار وتترك لمدة تقريبا 15–30 دقيقة. بعدها تغسل السلايدات بماء الحنفية الجاري للتخلص من الصبغة الزائدة ، ويجب ان تكون حافة السلايد العلوية ملامسة للماء ، وتترك لتجف ثم تفحص بالمجهر تحت العدسة الزيتية .

مسحة الدم المثالية يجب ان تكون :-

1- ذات سمك مثالي (اي لاسميكة ولا خفيفة) ويمكن التحكم بسمك المسحة عن طريق حجم قطرة الدم التي سيتم وضعها على الشريحة.
2- ان لا تكون المسحة مخططة او متقطعة غير منتظمة والتي تحدث عادة عندما تكون الشريحة الزجاجية زيتية الملمس ، وكذلك وجود الغبار على سطح الشريحة مما يسبب نقاط مرقعة.
3- نهاية المسحة المثالية يكون على شكل حرف D.



صورة 3 التحكم في زاوية نشر الشريحة الزجاجية للحصول على سمك مثالي لمسحة الدم

المواد المطلوبة لعمل مسحة الدم

1. شرائح زجاجية نظيفة slides
2. أغطية زجاجية cover glasses
3. اداة لترقيم الشرائح
4. وعاء تصبيغ (جار)
5. كحول مثيلي مطلق
6. صبغات مثل صبغة رايت او كمزا او رايت كمزا وغيرها من الصبغات...
7. حافظه شرائح
8. قطرة الدم

Dr.Sa[illegible]aiser