UNIVERSITE DE MOHAMED KHIDER BISKRA
FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

TRAVAUX PRATIQUES DE BIOLOGIE ANIMALE N° : 00
COUPES HISTOLOGIQUES

Préparation des coupes histologique à l'observation au microscope photonique

Pour une observation au microscope photonique, l'échantillon doit être de faible épaisseur (2 à 10 μm) afin de permettre le passage de la lumière. Ainsi, lorsque le matériel biologique est massif (tissus animaux ou végétaux : foie, cerveau, muscle, etc. ou tige, feuille, racine, etc.), il faut préalablement le débiter en tranches fines et régulières, que l'on appelle *coupes histologiques*.

من أجل الملاحظة تحت المجهر الضوئي ، يجب أن تكون العينة رفيعة (من 2 إلى 10 ميكرومتر) لكي تسمح بمرور الضوء. أيضا ، عندما تكون المادة البيولوجية ضخمة (نسيج حيواني أو نباتي: كبد ، دماغ ، عضلات ، إلخ أو جذع ، أوراق ، جذر ، إلخ) ، يجب أولاً تقطيعها إلى شرائح رفيعة ومنتظمة ، والتي تسمى المقاطع النسيجية.

De plus, les cellules vivantes non pigmentées ne sont pas clairement visibles au microscope à fond clair à cause de la faible différence de contraste entre les cellules et l'eau. D'où la nécessité d'utiliser des colorants spécifiques pour une observation correcte.

ضف إلى ذلك، الخلايا الحية غير الملونة لا تظهر بوضوح تحت مجهر ذو الحقل المضيء (ذو الخلفية المضيئة) بسبب انخفاض اختلاف التباين الموجود بين الخلايا والماء. ومن هنا تأتي ضرورة استخدام أصباغ (ملونات) محددة للملاحظة الصحيحة.

Étapes du protocole خطوات البروتوكول

Les étapes du protocole sont les suivantes: **خطوات البروتوكول هي كما يلي**

1. Fixation : la fixation a pour but de tuer les cellules tout en modifiant le moins possible leurs structures internes. On utilise à cet effet des mélanges variés : acides (acide acétique), alcools, aldéhydes (formol), etc.

التثبيت: الغرض من التثبيت هو قتل الخلايا مع المحافظة على هيكلها الداخلي بأقل قدر ممكن. لهذا الغرض، يتم استخدام امزجة مختلفة: الأحماض (حمض الخل) الكحول، الألدهيدات (الفورمالديهايد) ، إلخ.

2. Déshydratation : (ازالة الماء) اجتفاف

La déshydratation a pour but d'éliminer l'eau de l'échantillon et de la remplacer par un solvant du milieu utilisé pour l'inclusion ; elle consiste en une série de bains dans des alcools de plus en plus concentrés. Un dernier bain est réalisé dans un mélange alcool/solvant organique du milieu d'inclusion, pour arriver enfin à avoir l'échantillon dans ce solvant pur : xylène, toluène. . .

الغرض من العملية هو إزالة الماء من العينة واستبدالها بمذيب من الوسط المستخدم لإدراجها (تضمينها) ؛ تتألف العملية من سلسلة من الحمامات الكحوليات المركزة بشكل تدريجي من الاقل الى الاعلى تركيزا. يتم إجراء حمام نهائي بخليط من كحول / مذيب عضوي لوسط **التضمين** ، للحصول أخيرًا على العينة في هذا المذيب النقي: زيلين ، تولوين. . .

3. Inclusion : التضمين

L'inclusion a pour objectif d'imprégner totalement les cellules d'une substance durcissante, qui permettra une coupe fine et régulière. Cette substance, dont les molécules remplacent en fait les molécules d'eau initiales, est souvent la *paraffine* qui est liquide à 60 °C et dure à la température ambiante ; soluble dans les solvants cités plus haut, elle pénètre très aisément dans les tissus. Après plusieurs bains à 60 °C et durcissement de la paraffine, on obtient un « bloc »qui pourra être correctement coupé et qui sert aussi de moyen de stockage des échantillons.

الغرض من التضمين هو تشريب الخلايا تمامًا بمادة متصلبة ، مما يسمح بإجراء مقاطع دقيقة ومنتظمة. هذه المادة ، التي تحل جزيئاتها بالفعل محل جزيئات الماء الأولية ، غالبًا ما تكون ***البارافين*** ، الذي يذوب عند 60 درجة مئوية ويتجمد في درجة حرارة الغرفة ؛ قابل للذوبان في المذيبات المذكورة أعلاه ، يتغلغل بسهولة في الأنسجة. بعد عدة حمامات عند 60 درجة مئوية وتصلب البارافين ،سيتم الحصول على "كتلة" يمكن قطعها بشكل سليم والتي تعتبر أيضًا كوسيلة لتخزين العينات.

4. Coupe : القطع

La coupe a pour but de réaliser des sections fines (de 2 à 10 μm d'épaisseur) et transparentes de l'objet inclus. On utilise un *microtome*, muni d'un rasoir métallique et d'un système mécanique qui donne des coupes sériées ; celles-ci sont collées sur des lames de verre, séchées et déparaffinées avec du xylène ou du toluène. Seule la matière organique de la coupe subsiste sur la lame.

الغرض من القطع هو الحصول على مقاطع رقيقة (بسماكة 2 إلى 10 ميكرومتر) وشفافة من المادة المتضمنة. يتم استخدام **ميكروتوم** ، مزود بشفرة معدنية ونظام ميكانيكي يعطي عدة مقاطع متسلسلة؛ هذه الاخيرة يتم الصاقها على شرائح زجاجية ، مجففة ومنزوعة البارافين باضافة الايكزيلان او التوليين. تبقى على الشريحة المادة العضوية فقط.

5. Coloration : التلوين

De nombreux colorants — plus ou moins spécifiques — peuvent être utilisés pour observer les structures cellulaires : bleu de méthylène, vert de méthyle, rouge Soudan III...

يمكن استخدام العديد من الملونات والأصباغ – نوعا ما متخصصة – لملاحظة البنيات الخلوية مثل : أزرق الميثيلين ، والأخضر الميثيل، وأحمر السودان III ...