

Alcian blue and L-lysine stains as a fixative for direct observation of *Bacillus subtilis* biofilm formation *in situ*, on Congo red agar, using electron microscopy

المخترعون

اسراء عقيل محمد علي/ قسم علم الأمراض، كلية طب حمورابي، جامعة بابل، العراق.

هيام عدنان علي/ قسم الاحياء المجهرية، كلية طب حمورابي، جامعة بابل، العراق.

أوراس عبد السيد مهدي حسين الحسيني/ قسم علوم الحياة، كلية العلوم للبنات، جامعة بابل، العراق

نادية محمود توفيق جبريل/ قسم علوم الحياة، كلية العلوم للبنات، جامعة بابل، العراق

أصيل عامر هادي /كلية العلوم، جامعة المستقبل، 51001، بابل، العراق

فراة حسن السلطاني /كلية العلوم، جامعة المستقبل، 51001، بابل، العراق

زهراء عقيل مسلم/قسم الاحياء المجهرية / كلية الطب البيطري، جامعة القاسم الخضراء، بابل 51013، العراق

علي طه الأعرجي/كلية طب الأسنان، كلية المستقبل الجامعة، بابل 51001، العراق

سارة حسين حمزة/قسم علوم الحياة، كلية العلوم للبنات، جامعة بابل، العراق.

تم تسجيل براءة الاختراع في مكتب براءات الاختراع الأمريكية (USPTO)

يتعلق هذا الاختراع بمجال مشاهدة البكتريا تحت المجهر الالكتروني، وعلى وجه الخصوص مشاهدة الأغشية الحيوية لها جيداً و بطريقة تصبغ جديدة.

لأنه غالباً ما لا يتم مشاهدة الأغشية الحيوية جيداً وذلك كون عملية التثبيت و التصبغ غير مافية و فعالة.

من اجل ذلك، وجد أنه من الممكن استخدام صبغة (lycine و ABL alcian blue) لتثبيت الأغشية، مما يشير إلى إمكانية إن المراقبة الأكثر وضوحاً للأغشية الحيوية في الموقع من شأنها أن تعزز عملية اتخاذ القرارات البيئية والسريية وتوفر الأساس للبحث المتقدم حول أساليب التحكم الجديدة

الملاحظة المباشرة ، المسح المجهرى الإلكتروني (SEM) هي طريقة شائعة تستخدم في ملاحظات الأغشية الحيوية. أثبتت طريقة تثبيت (3-dimethylaminopropyl)-N- EDC (N'-ethylcarbodiimide) أنها طريقة تثبيت قيمة في مراقبة هذه الأغشية الحيوية. ومع ذلك ، فإنه يستلزم طريقة جيدة لتثبيت الأغشية الحيوية التي يمكن أن تتلف الهياكل، مما يؤدي إلى المراقبة المستحيلة لمشاهدة تطور الأغشية الحيوية. في المقابل ، صبغة (ABL alcian blue و lysine) تظهر تقنية التثبيت جيدة للحفاظ على تركيب glycocalyx من الأغشية الحيوية، تظهر عينات محفوظة بالكامل، والتي قد توفر نظرة ثاقبة على تطوير الأغشية الحيوية. في هذه الدراسة، تم التحري عن إمكانية الاستخدام الجديد لتقنية ABL لتثبيت ومشاهدة الأغشية الحيوية في *Bacillus subtilis*، على أجار الكونغو الأحمر تحت المجهر الإلكتروني، مع المقارنة للاستخدام الشائع لتقنية EDC التقليدية لتثبيت العينة تم أيضا؛ استندت ملاحظات المجهر الإلكتروني SEM على أكثر من 30 عينة.

أظهرت النتائج تقنية ABL تثبيت ممتازة الأغشية الحيوية المتكونة في الموقع ، على أجار الكونغو الأحمر ، وكشفت هيكل الأغشية الحيوية، التي لم يتم ملاحظتها ، كثيرا في التثبيت القياسي المستخدم EDC أو في دراسات أخرى سابقة لهذه الأغشية الحيوية في *B. subtilis*. الخلاصة: سجلت هذه البراءة الاستخدام الاول لصبغة ABL في تقنية التثبيت للحفاظ على الأغشية الحيوية في

Bacillus subtilis للمشاهدة تحت المجهر الإلكتروني SEM.