

Steps of Treatment microbiology sample خطوات معالجة عينة احياء دقيقة

Primary Fixative by buffered Glutaraldehyde 2.5% over night in refrigerator,(use centrifuge to remove each solution at 7000 rps for 5 min) then wash by phosphate buffer pH=7.2 , secondry fixative by buffered Osmium Tetroxide 1% over night in refrigerator ,then dehydration by series conc. Of ethanol, embedding by resin mixture from SPI (SPI-Pon™ - Araldite® Epoxy Embedding Kit), the block well cutting by (leica UC6 ultramicrotome) the section thickness is between 70-80 nm and it lode in cupper grid then stain by aqua's uranyl acetate and lead citrate, exam under Transmisstin Electron microscope (TEM) (Jeol JSM-1011 electron microscope).

تم التثبيت الأولي بواسطة محلول جلوترالدهيد 2.5% مذاب في محلول الفوسفات المنظم لمدة ليلة كاملة في الثلاجة (يتم التخلص من كل محلول بواسطة الطرد المركزي على سرعة 7000 لمدة 5 دقائق) بعد ذلك الغسيل عدة مرات بالمحلول الفوسفات المنظم pH=7.2

ثم التثبيت الثانوي بواسطة رابع اوكسيد الاوزميوم 1% مذاب في محلول الفوسفات المنظم لمدة ليلة كاملة في الثلاجة, ثم الغسيل عدة مرات بالمحلول الفوسفات المنظم ثم التجفيف (نزع الماء) بواسطة تراكيز متزايدة من الإيثانول, تم الطمر بواسطة خلطة الرزن من شركة

SPI - (SPI-Pon™ - Araldite® Epoxy Embedding Kit)
تم تقطيع البلوكات (القوالب) بواسطة الميكروتوم الدقيق من شركة لايكا
(leica UC6 ultramicrotome)

وتم تحميل المقاطع سماكتها 70-80 نانومتر على شبكات نحاسية, صبغت المقاطع بواسطة خلات اليورانيوم وسترات الرصاص وتم الفحص والتصوير بواسطة المجهر الالكتروني النافذ من شركة جيول.

(TEM) (Jeol JSM-1011 electron microscope)

العملية	المحلول	عدد المرات	الزمن
التثبيت	2,5% جلوتر الدهيد	1	6-8 ساعات أو ليلة كاملة في الثلاجة
الفصل	محلول الفوسفات منظم pH=7.2	4	نصف ساعة وأخر مرة ليلة كاملة في الثلاجة
التثبيت	1% رابع اوكسيد الاوزميوم	1	1 ساعة أو ليلة كاملة في الثلاجة
الفصل	محلول منظم	4	ربع ساعة
التجفيف	ايثانول 30%	2	5 د
	ايثانول 50%	2	5 د
	ايثانول 70%	2	5 د
	ايثانول 80%	2	5 د
	ايثانول 90%	3	10 د
	ايثانول 100%	3	10 د
الترويق	استون	2	10 د
التخلل والتشرب	استون و رزن 2:1	1	1 ساعة
	استون و رزن 1:2	1	1 ساعة
	رزن نقي (SPI-Pon™ - Araldite® Epoxy Embedding Kit) from SPI	1	1 ساعة
البلمرة	الفرن درجة الحرارة 60-70 م		14-16 ساعة
الصيغة المزوجة	خلات اليورانسيوم	1	30 د
	سترات الرصاص	1	10 د

