Rapid detection test for *E.coli*

لیز باکتری *E.coli*

بافر لیز کننده

بافر بهینه شده
Tris-EDTA در PH= 8

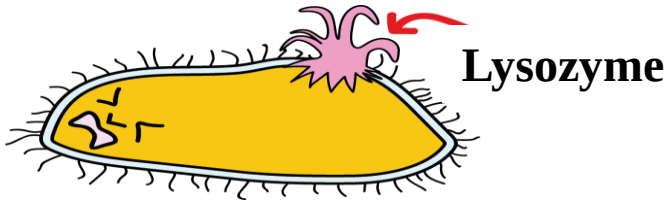
تهیه بافر لیز کننده
10 mM Tris HCl and 1.0 mM EDTA pH 8.0.
Glucose 1% + Mercaptoethanol 1%
در حجم ۵۰ میلی لیتر که ده درصد حجم آن SDS اضافه می شود.

تهیه آنزیم لیزوزیم:
لیزوزیم با غلظت
۱۰mg/ml

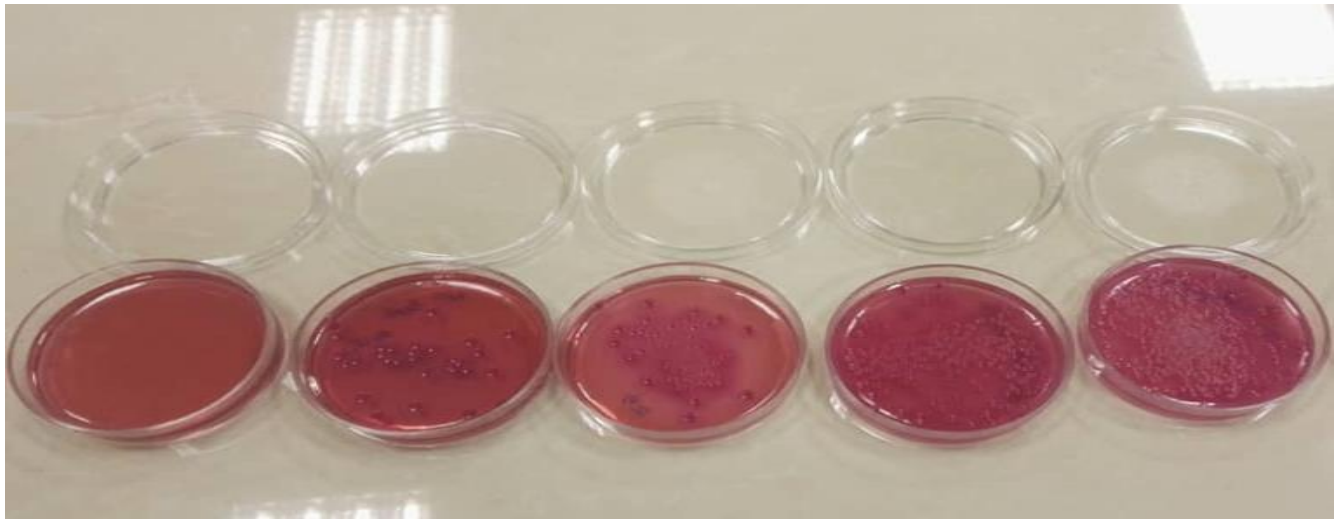
سنجش میزان لیز شدن

روش کشت و رنگ سنجی

- بررسی تعداد باکتری از طریق کدورت سنجی
- کدورت نیم مک فارلند از کشت ۱۸ ساعته (باکتری *E.*coli سویه ATCC25922)در محیط مایع BHI
- اسپکتروفتومتر OD= 0.11- 0.12 (CFU ۱۰۸)



- ✓ اضافه کردن ۲ تا ۴ میکرولیتر از مقادیر مختلف آنزیم (۲-۲/۵- ۳- ۳/۵- ۴) به رقت های متوالی از باکتری*E.coli*
- ✓ کشت با روش pour plate در محیط BHI آگار و مک کانکی آگار
- ✓ انکوبه کردن پلیت ها یک شب در ۳۷ درجه سانتی گراد



در نهایت پلیت حاوی لیزوزیم به میزان ۳ میکرولیتر و با رقت 10^{-5} تعداد کلنی به صفر رسید.

تهیه پایه کاغذی

آماده سازی معرف X-glucuronide BC- Indicator برای تهیه نوار کاغذی:

۳ میلی گرم سوبسترای رنگی در ۰/۵ میلی لیتر دی متیل فورمامید و ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر استریل