



# Vilken effekt har lysozym?

En toxikologisk testmetod används för att undersöka effekten av lysozym. Metoden innebär att en bakteriesuspension sprids ut på en agarplatta. På plattan läggs små filterpapperslappar, som doppats i de lösningar man vill undersökas. En klar zon utan bakterieväxt bildas runt de prover som är giftiga för bakterierna – ju större diameter på avdödningszonen desto giftigare.

## Säkerhet

Endast klass 1-organismer ska användas i skolan. Uppodling av bakterier i vätskesuspension ska göras av lärare.

## Material

1. *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* och *Bacillus subtilis* hämtas från agarplatta eller odlas upp i flytande näringsmedium över natten, t.ex. Nutrient broth (NB). Olika bakterier kan ge olika resultat.
2. Sterila plattor med ett allsidigt näringssubstrat, t.ex. Nutrient agar. (Köp in färdigt medium, tillsätt vatten enligt anvisningar på förpackningen, autoklavera och gjut plattor.)
3. Lösningar med lysozym, olika koncentrationer t.ex. 0,1 g/ml
4. Tops med långa träskaft (kan köpas på apotek.)
5. Värmeskåp, 37 °C
6. Filterpapperslappar gjorda med hålslag

## Utförande

Agarplattor med näring bereds i förväg. Att göra i ordning försöket tar ca 30 minuter och avläsningen görs tidigast efter 1 dygn. Plattorna kan förvaras i kylskåp om avläsningen behöver skjutas upp.

1. Använd ympnål och skrapa bakterier från en platta. Rör ut bakterierna i ca 1 cm<sup>3</sup> vatten i ett provrör. Ta så mycket bakterier att suspensionen blir kraftigt grumlig. Ett alternativ är att odla upp bakterier i flytande NB över natt vid 37 °C.
2. Doppa en tops i en av bakteriesuspensionerna och stryk ut bakterierna på en ren plattan med näringsagar. Låt varje streck med topsen täcka det föregående. Vänd därefter plattan och stryk ut bakterier på tvären över den första utstrykningen. Hela ytan ska täckas med täta streck – det får inte bli ett glest ruttmönster! Gör på samma sätt plattor med de andra bakteriearterna. Byt tops mellan olika bakterier. Ställ de använda topsen i en bägare med lite 70-procentig etanol.
3. Olika lösningar kan testas genom att små runda filterpapperslappar, doppas i testlösningar. Lapparna placeras sedan på agarytan med de utstrukna bakterierna. Använd steril preparernål för att placera ut lapparna. Se till att inte ett överskott av vätska följer med lappen – håll den mot kanten av kärlet så att överskottet rinner av. Om resultaten ska kunna jämföras måste alla lapparna behandlas likadant.
4. Placera plattorna i värmeskåp vid 37 °C i 1 dygn eller i rumstemperatur under 2-3 dagar.
5. Avläsning: En klar zon utan bakterieväxt runt det testade ämnet visar att det är giftigt för bakterien – ju större diameter på avdödningszonen desto giftigare. Mät diametern på avdödningszonen. Blir det någon skillnad mellan bakterierna? Vad kan det i så fall bero på?