**CORSO DI Biotechnology applied to food production**

**LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA**

DATA ESERCITAZIONE \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ GRUPPO: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

NOME STUDENTE\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

NUMERO CAMPIONE IN ESAME\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Step 1

**Colorazione di GRAM**: classificazione dei batteri Gram positivi o Gram negativi in base alle proprietà fisiche e chimiche della parete cellulare.

Descrivere brevemente ogni fase:

|  |  |
| --- | --- |
| Fissazione |  |
| Colorazione |  |
| Osservazione al microscopio: colore |  |
| Osservazione al microscopio: forma |  |
| Inserisci un resoconto esaustivo dell’attività svolta e la descrizione finale del batterio |  |

Step 2

**Mobilità:** esame a goccia pendente. Valutare se i batteri sono dotati di motilità propria per la presenza di flagelli.

|  |  |
| --- | --- |
| Descrivere brevemente la preparazione e l’osservazione al microscopio: |  |

Step 3: analisi qualitativa

**Identificazione del microrganismo**: per poter classificare un batterio è necessaria la sua corretta identificazione per i suoi caratteri colturali e metabolici.

TERRENO DI COLTURA: dopo aver letto attentamente le schede sei terreni di coltura, seminare su ognuno un’ansata per valutare lo sviluppo e la crescita del microrganismo.

Descrivere per ogni terreno fornito se è solido, liquido, di arricchimento, selettivo, nutritivo o differenziale.

|  |  |
| --- | --- |
| **Terreno** | **Descrizione** |
| Agar sangue |  |
| Violet Red Bile Glucose agar |  |
| Violet Red Bile  Lactose agar |  |
| Brilliant Green Agar |  |
| Kligler Iron Agar |  |
| Xylose Lysine Desoxycholate Agar |  |
| Triple Sugar Iron  Agar |  |
| Urea AgarBase |  |
| Chromogenic Salmonella Agar Base |  |
| Brilliant Green Bile Broth |  |
| Tryptone Tryptophan Medium |  |

Step 4: analisi quantitativa

**Determinazione della carica microbica presente:** allestire una serie di diluizioni decimali per ridurre la concentrazione del microrganismo in soluzione e determinarne la sua densità.

Trasferire 1 ml di soluzione concentrata in 9 ml di liquido di diluizione. Ogni provetta conterrà una soluzione dieci volte più diluita rispetto alla precedente, partendo dalla prima che contiene il prodotto puro.

Calcolare il fattore di diluizione finale e la concentrazione e scrivere qui sotto il calcolo.

|  |
| --- |
|  |

**Conta vitale**: consiste nel determinare il numero di cellule presenti in un campione capaci di formare colonie su terreno agarizzato. Vi sono due metodi per attuare una conta in piastra: la semina in superficie e la semina per inclusione. Nella semina in superficie, un volume noto (di solito 0,1 ml), di una coltura opportunamente diluita viene distribuito sulla superficie di una piastra di terreno solido con una spatola. Nella semina per inclusione, un volume noto (di solito 0,1-1,0 ml) di coltura viene pipettato in una piastra petri sterile; viene poi aggiunto il terreno agarizzato fuso e il tutto viene mescolato facendo ruotare gentilmente la piastra sul piano del tavolo. In entrambe le tecniche è importante che il numero di colonie che si sviluppano su una piastra non sia troppo elevato, poiché un eccessivo affollamento impedisce ad alcune cellule di formare colonie e il conteggio sarebbe quindi sottostimato. Inoltre è anche essenziale che il numero di colonie non sia troppo piccolo, altrimenti la significatività̀, statistica del numero di cellule così calcolato sarebbe troppo bassa. La pratica corrente, che è quella statisticamente più̀ valida, consiste nel contare le colonie solo nelle piastre che contengono un numero di colonie compreso tra 30 e 300. Per ottenere un numero di colonie appropriato per il conteggio, il campione che deve essere contato deve quasi sempre venire diluito.

Seminare per inclusione e spatolamento le diluizioni che contengono un numero di colonie comprese tra 30 e 300.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| N° campione | Diluizione | Inclusione/spatolamento |
|  |  |  |

Data\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Firma\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Firma\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Firma\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Firma\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_