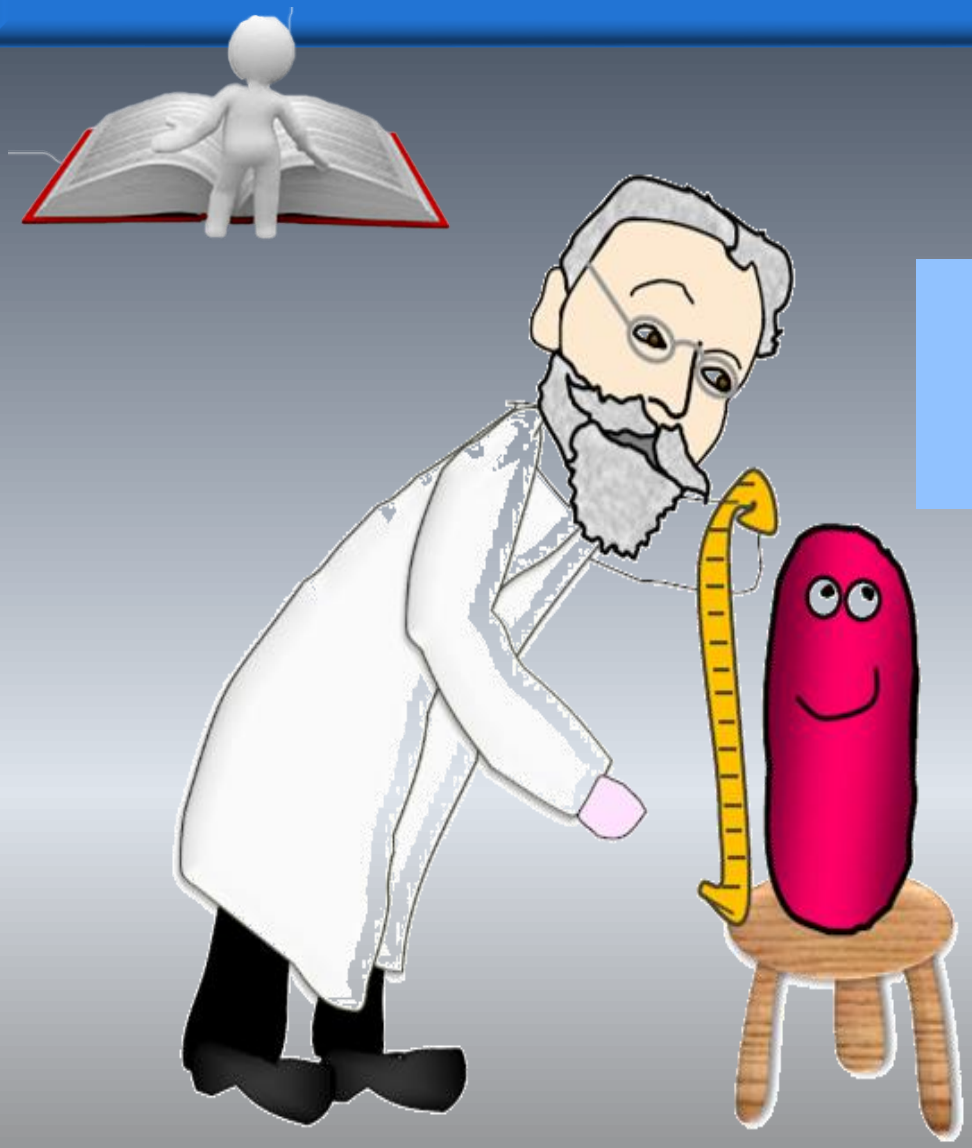
Dipartimento di Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche
Università degli Studi di Torino

COLTIVAZIONE E SEMINA MICRORGANISMI

Prof.ssa Vivian Tullio

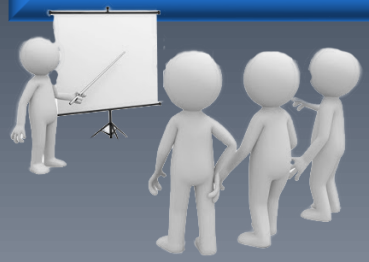
CARATTERISTICHE DEI MICRORGANISMI



Per formulare un buon terreno di coltura bisogna conoscere le esigenze dei batteri

Energia, nutrienti, condizioni di incubazione ideali

CARATTERISTICHE DEI MICRORGANISMI



ESIGENZE ENERGETICHE DEI BATTERI

Batteri AUTOTROFI

Batteri ETEROTROFI

AUTOTROFI

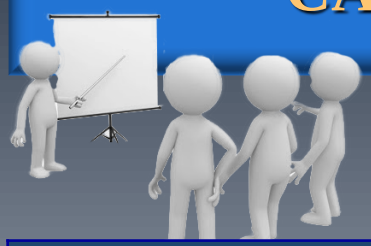
FOTOSINTETICI
(en.solare in en. chimica)

CHEMIOSINTETICI LITOTROFI
(en.da ossidazione di composti inorganici)

ETEROTROFI

CHEMIOSINTETICI ORGANOTROFI
(en.da ossidazione di composti organici da semplici a complessi)

CARATTERISTICHE DEI MICRORGANISMI



ESIGENZE ENERGETICHE DEI BATTERI

TIPO DI NUTRIZIONE	CAPACITA' DI SINTESI	FONTE DI ENERGIA	ORGANISMI CORRISPON-DENTI
Autotrofia	Totale	Luce Legami chimici	Batteri fototrofi B.Chemio-litotrofi
Eterotrofia	Parziale	Legami chimici	Batteri e Funghi chemiorgano-trofi
Paratrofia	Assente	Cellula ospite	Virus

FATTORI CHE INFLUENZANO LA SOPRAVVIVENZA E MOLTIPLICAZIONE DEI BATTERI

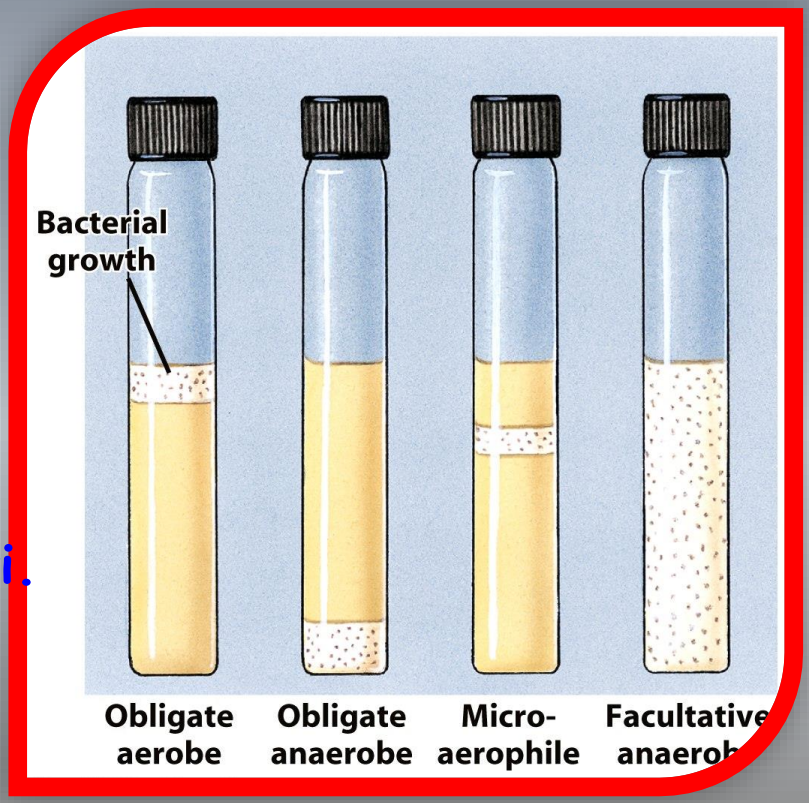
DISPONIBILITÀ DI O_2

A. *Mycobacterium tuberculosis* Cresce in agitazione - aria

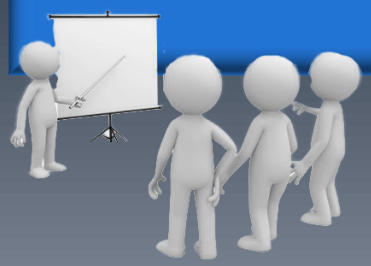
B. Clostridi non crescono in presenza di ossigeno

C. Streptococchi crescono stentatamente in presenza di ossigeno. Optimum di crescita in aria con >10% di CO_2

D. Aerobi-anaerobi facoltativi. Crescono sia in presenza che In assenza di aria. In assenza di ossigeno seguono la via fermentativa.
Es. *Vibrio, Escherichia*



FATTORI CHE INFLUENZANO LA SOPRAVVIVENZA E MOLTIPLICAZIONE DEI BATTERI



pH

pH 2-4 ACIDOFILI (*es. Lattobacilli*)

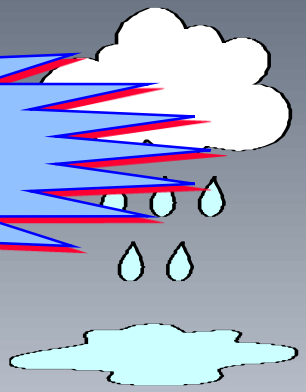
pH 5-8 NEUTROFILI (*la maggior parte dei batteri* ⇒ PATOGENI)

pH 8-11 ALCALOFILI (*es.Vibrio cholerae*)

CARATTERISTICHE DEI MICRORGANISMI

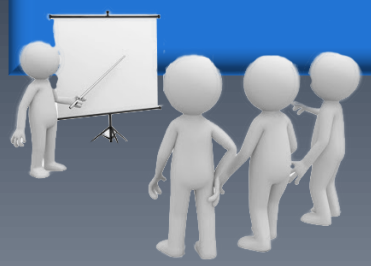
L'IMPORTANZA DELL'ACQUA

I microrganismi necessitano di acqua per il loro metabolismo



La presenza di acqua non legata al terreno è molto importante e influenza altri fattori che condizionano lo sviluppo batterico.

FATTORI CHE INFLUENZANO LA SOPRAVVIVENZA E MOLTIPLICAZIONE DEI BATTERI



PRESSIONE OSMOTICA dipende dalla concentrazione di sostanze disciolte nell'H_2O

Se aumenta la P.O. nel terreno (aggiunta di 15-20% NaCl o 20-25% di zucchero) si impedisce l'assunzione di H_20 da parte del batterio con arresto dello sviluppo (salazione**)**

OSMOFILI crescono anche in condizioni ipertoniche (70-80% di zuccheri nel miele**) lieviti**

ALOFILI 30% concentrazioni saline (Mar Morto**) Grampositivi (7-8% NaCl)**

FATTORI CHE INFLUENZANO LA SOPRAVVIVENZA E MOLTIPLICAZIONE DEI BATTERI

TEMPERATURA

PSICROFILI

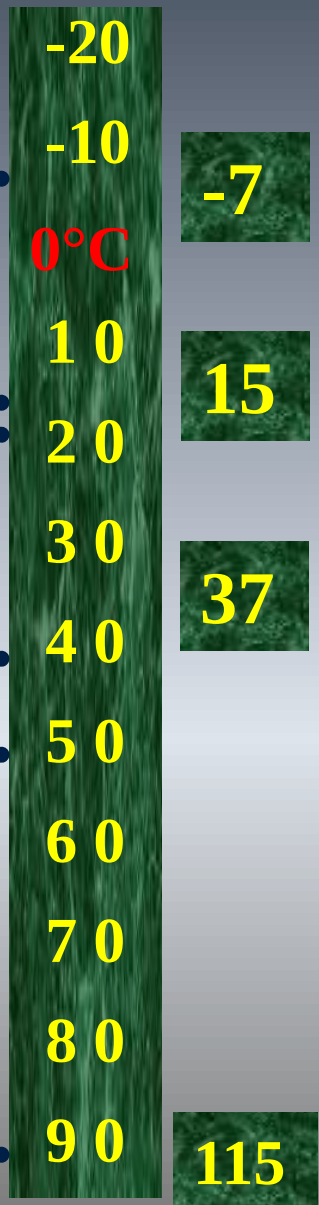
ARTIDE-ANTARTIDE-CIBI

MESOFILI

PATOGENI - CIBI

TERMOFILI

PROTEINE CON PONTI S-S



TERRENO MINIMO

1. **H_2O**
2. **GLUCOSIO (**fonte di C**)**
3. **SOLFATO DI AMMONIO (**fonte di N**)**
4. **SALI MINERALI**

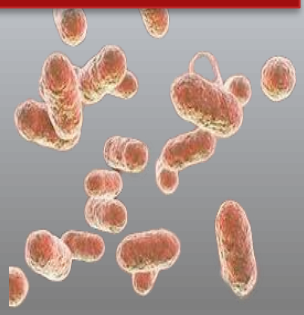
BATTERI PATOGENI

Richiedono terreni più complessi arricchiti di indispensabili

FATTORI DI CRESCITA ORGANICI

- aminoacidi,
- basi azotate (purine e pirimidine)
- Vitamine

(per sintesi proteine, ac.nucleici, per catalizzare reazioni chimiche)



Questi batteri non riescono a sintetizzare queste sostanze: devono trovarle nel terreno colturale

TERRENI DI COLTURA

Stato fisico

- **Liquidi (brodi)**
- **Solidi (agar 1.5-2%)**

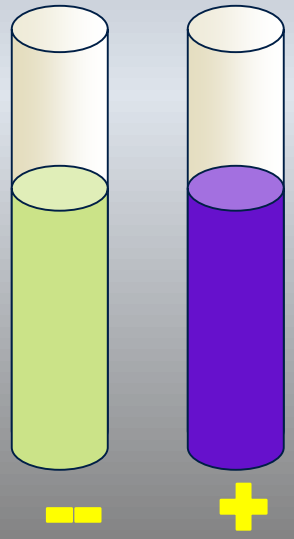
AGAR = polisaccaride acido estratto da alghe liquido >50°C - solido <50°C
Non tossico per i batteri
Reticolo 3D → diffusione libera delle sostanzeso)

TERRENI DI COLTURA

BRODI NUTRITIVI

H_2O, NaCl,
estratto di carne, peptone

(derivato dalla digestione parziale di proteine animali)

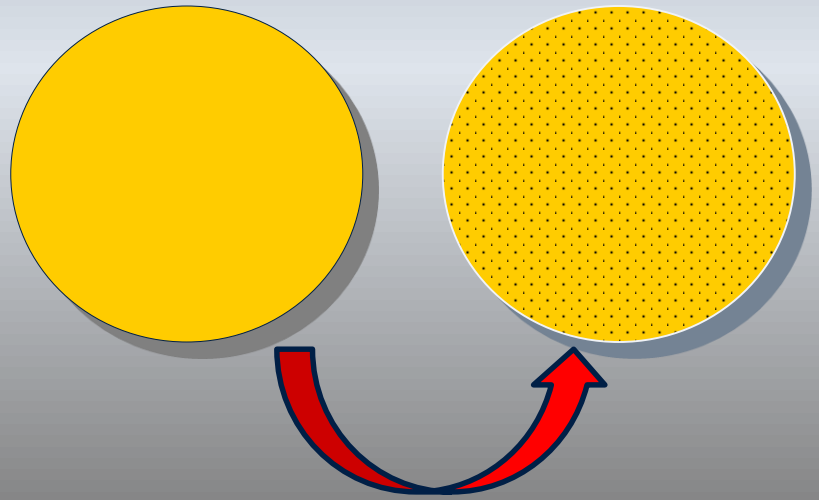


Crescita batterica massiva

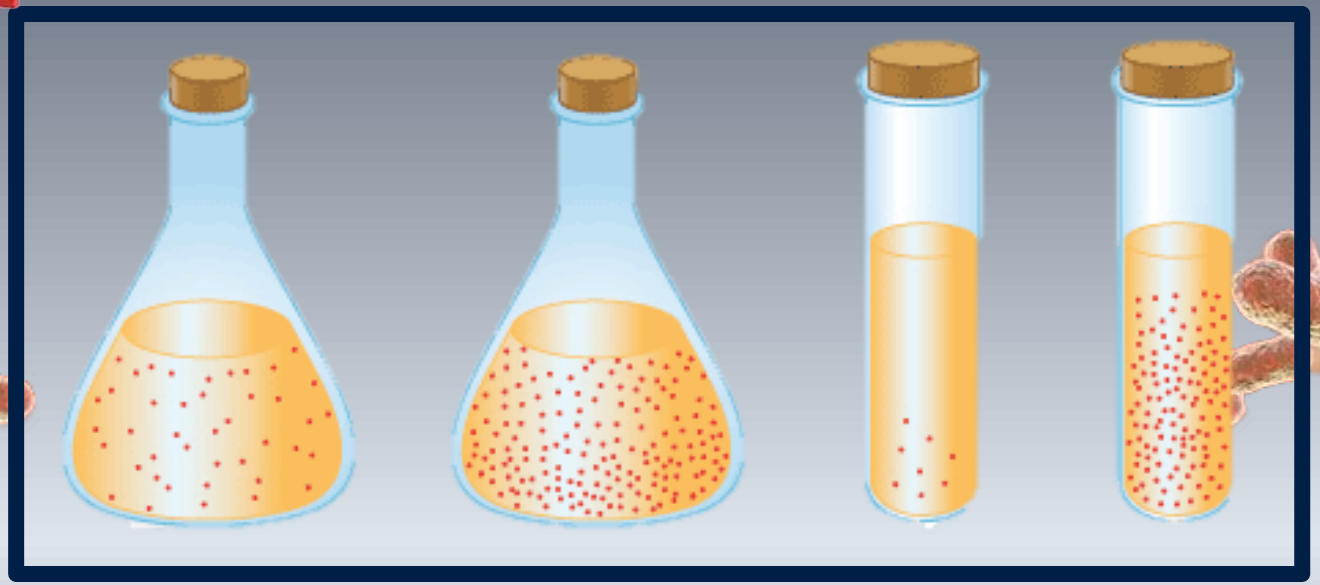
TERRENI SOLIDI
in capsule Petri

Crescita batterica si manifesta come

COLONIE

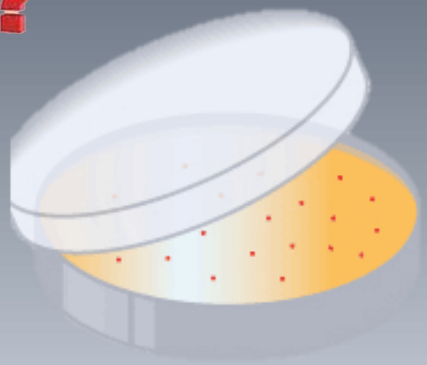


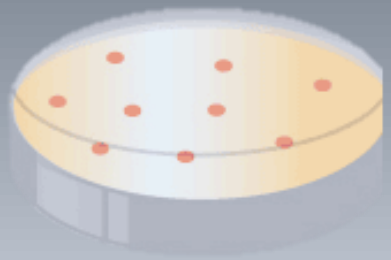
TERRENI DI COLTURA

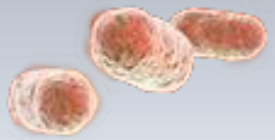


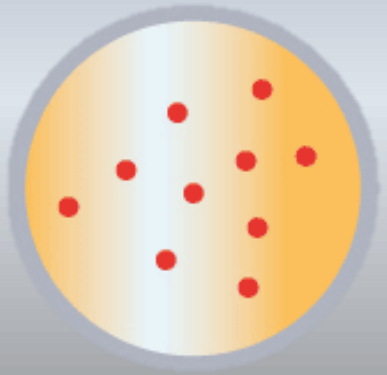
Terreni di coltura liquidi

TERRENI DI COLTURA

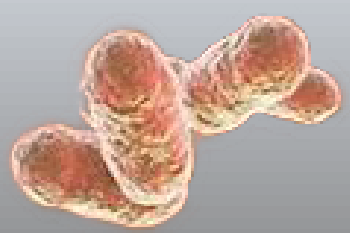


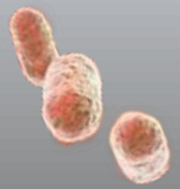






Terreni di coltura solidi



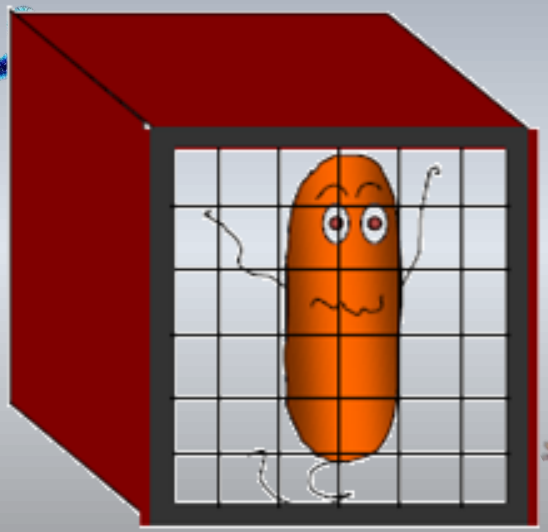


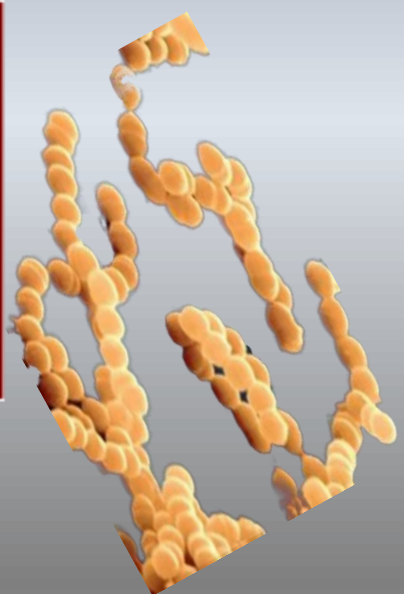
BATTERI PATOGENI

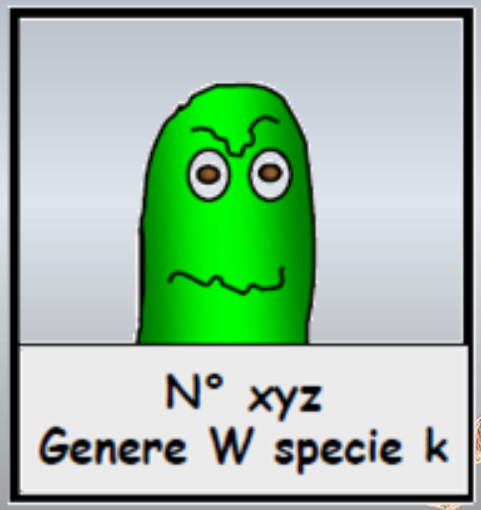
IDENTIFICAZIONE PER CARATTERISTICHE COLTURALI

ISOLAMENTO

CARATTERIZZAZIONE







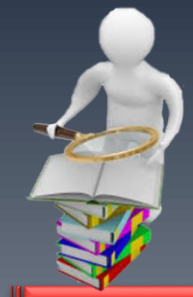
TERRENI NATURALI

LATTE - SANGUE - INFUSI VEGETALI - BRODI DI CARNE

TERRENI SINTETICI

a composizione esattamente definita

- NORMALI
- RICCHI-ARRICCHITI
- SPECIALI
  - *TRASPORTO*
  - *SELETTIVI*
  - *DIFFERENZIALI*



TERRENI DI COLTURA

TERRENI NORMALI

permettono la crescita di molte specie microbiche.

TERRENI RICCHI-ARRICCHITI

es. *agar sangue* (sangue defibrinato di cavallo/montone/bue al 5%)

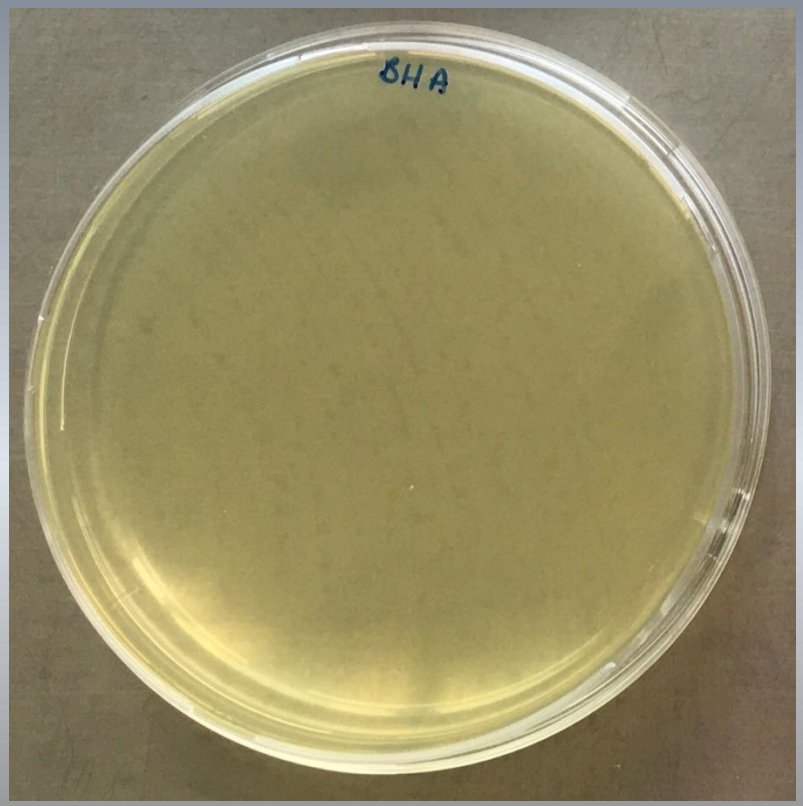
TERRENI SPECIALI

- Consentono di:
  Trasportare e conservare i batteri vivi
- *Isolare* una singola specie da 1 campione polim.
- *Identificare* un batterio tramite caratteri differenziali

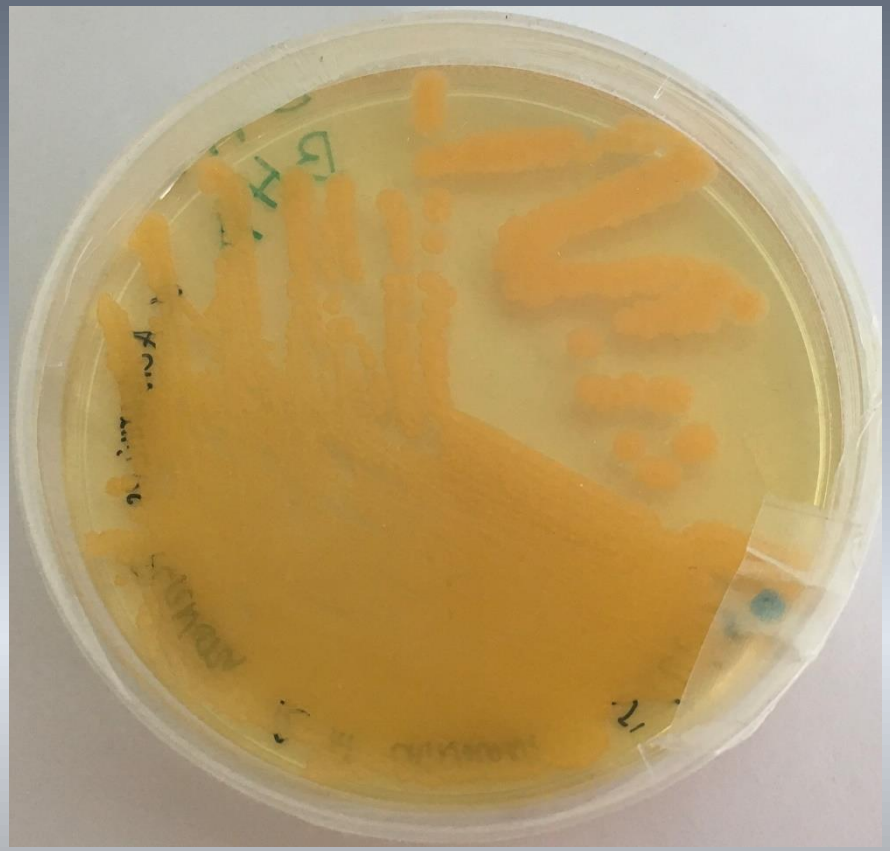
TERRENI DI COLTURA

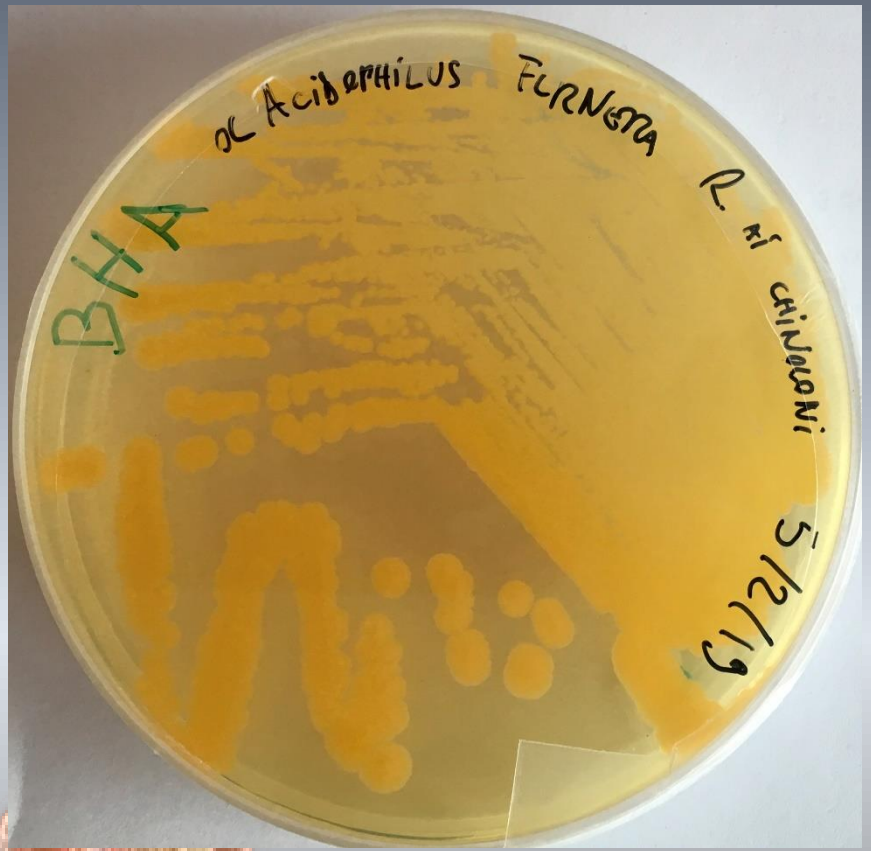
TERRENI NORMALI

permettono la crescita di molte specie microbiche.



TERRENI DI COLTURA

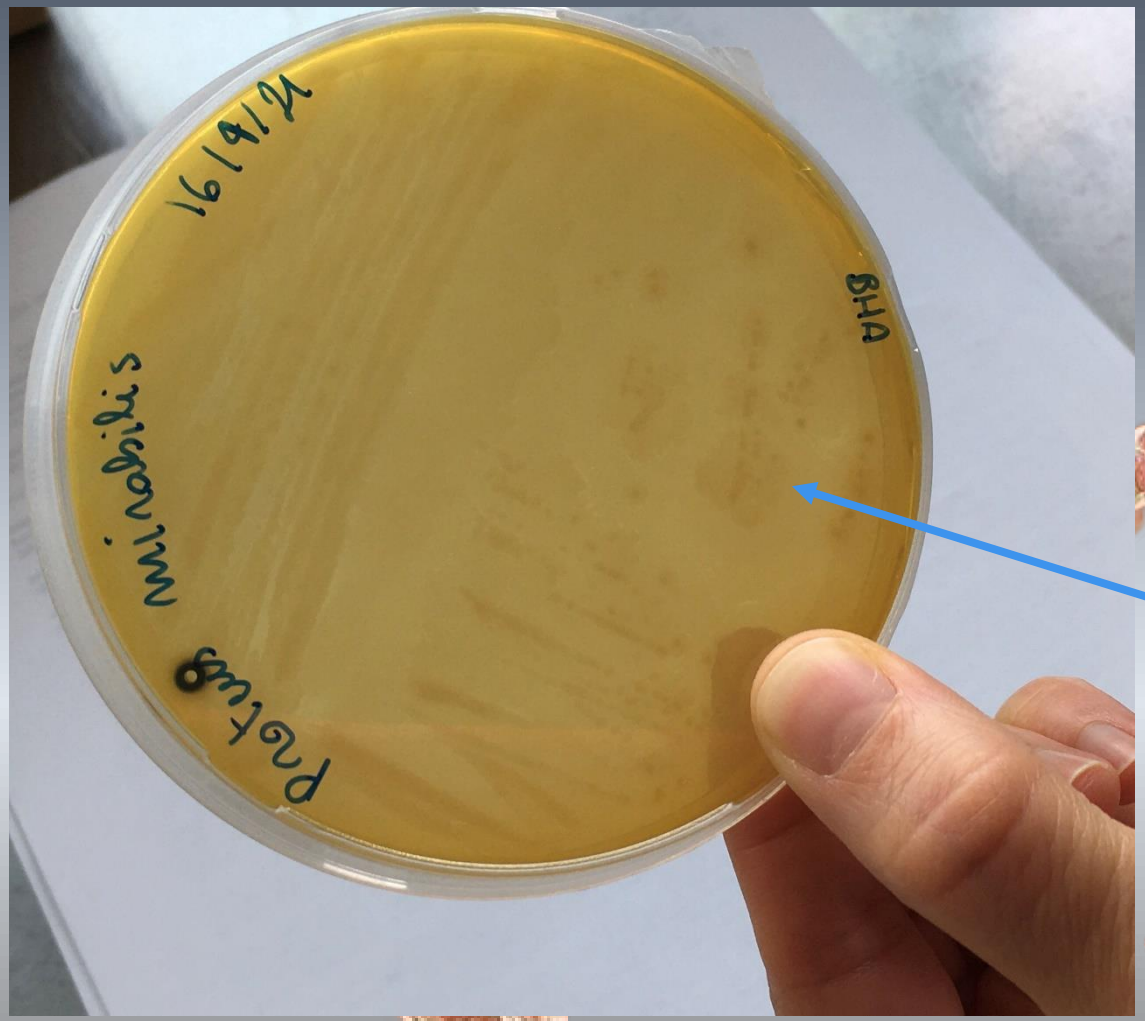




BHA infuso cuore e cervello

Lactobacillus acidophilus

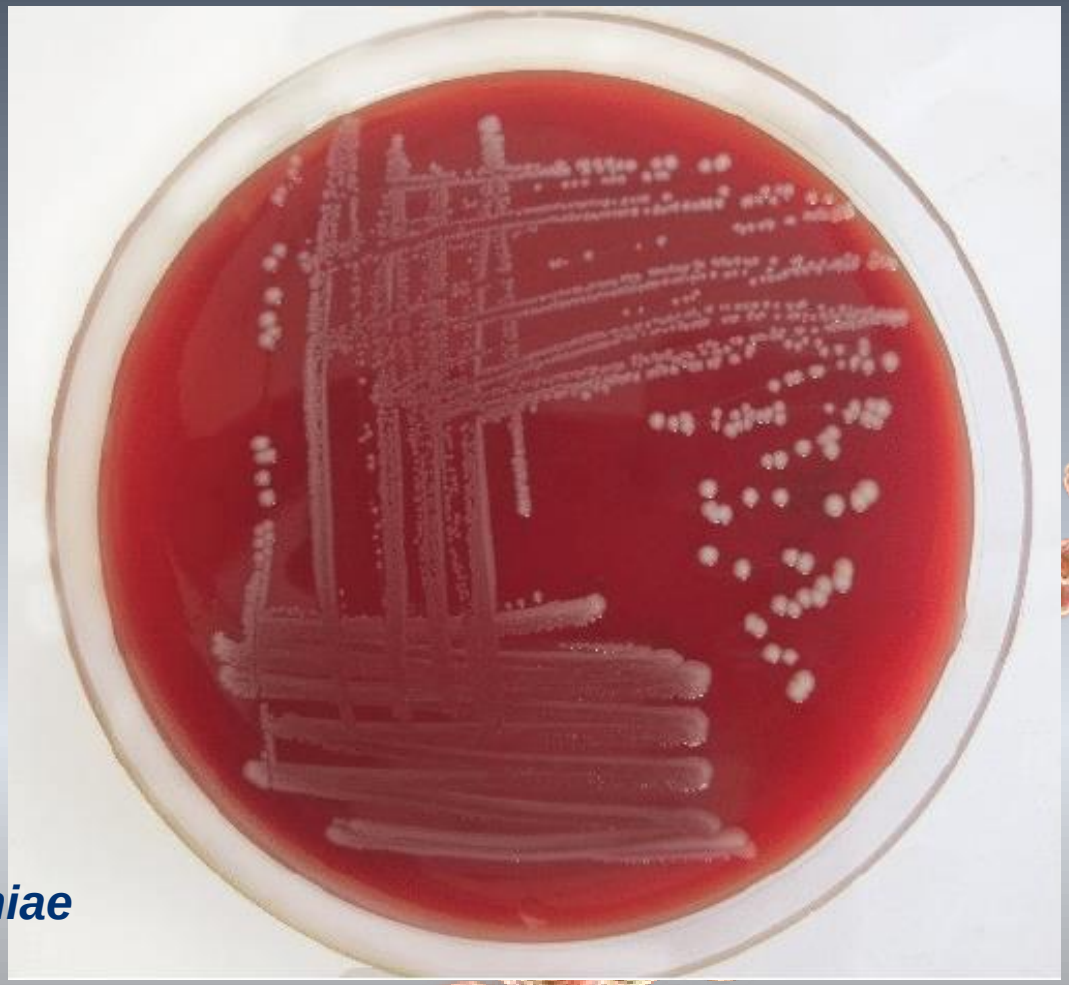
TERRENI DI COLTURA



BHA infuso cuore e cervello

sciamaggio

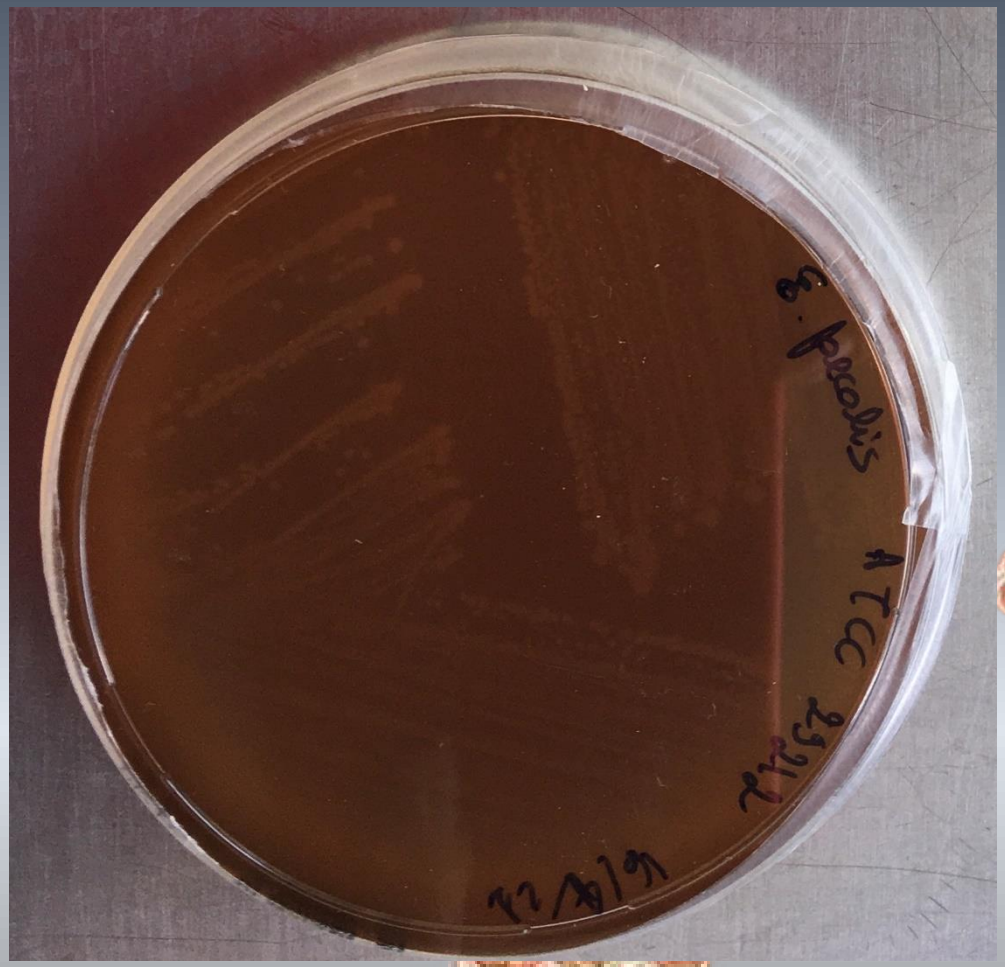
TERRENI DI COLTURA



Klebsiella pneumoniae

Columbia Blood agar base

TERRENI DI COLTURA



agar SANGUE

TERRENI DI TRASPORTO

TERRENO DI STUART

- *mantengono MCO* vivi ⇒ soluzioni saline tamponate
- carica microbica inalterata per mancanza di C, N e fattori di crescita

TERRENI SPECIALI

TERRENI SELETTIVI

- pressione selettiva per aggiunta di: coloranti, elevate [NaCl], valori di pH acidi o alcalini
- Brodo selenite per isolare Salmonelle e Shigelle da feci

TERRENI SPECIALI

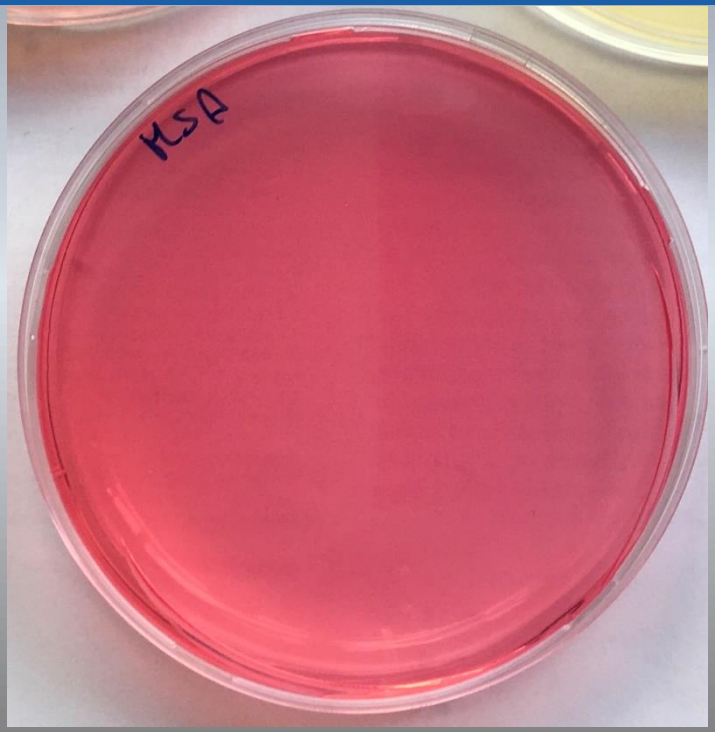
TERRENI SELETTIVI

- **Mannitol Salt agar** con 7.5% NaCl per stafilococchi (alofili)
- **Mac Conkey agar** con colorante cristal-violetto che inibisce la crescita di batteri Gram positivi
- **Sabouraud dextrose agar** pH 4.5-6 per miceti

TERRENI SPECIALI

TERRENI SELETTIVI

- **Mannitol Salt agar** con 7.5% NaCl per stafilococchi (alofili)



TERRENI SPECIALI

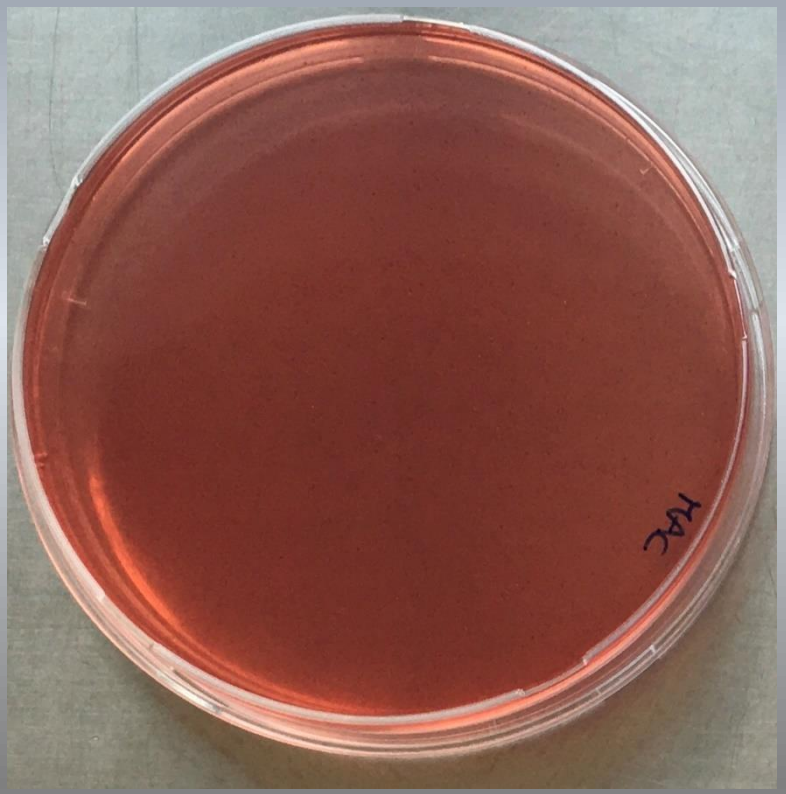
TERRENI SELETTIVI

- **Mannitol Salt agar** con 7.5% NaCl per stafilococchi (alofili)

TERRENI SPECIALI

TERRENI SELETTIVI

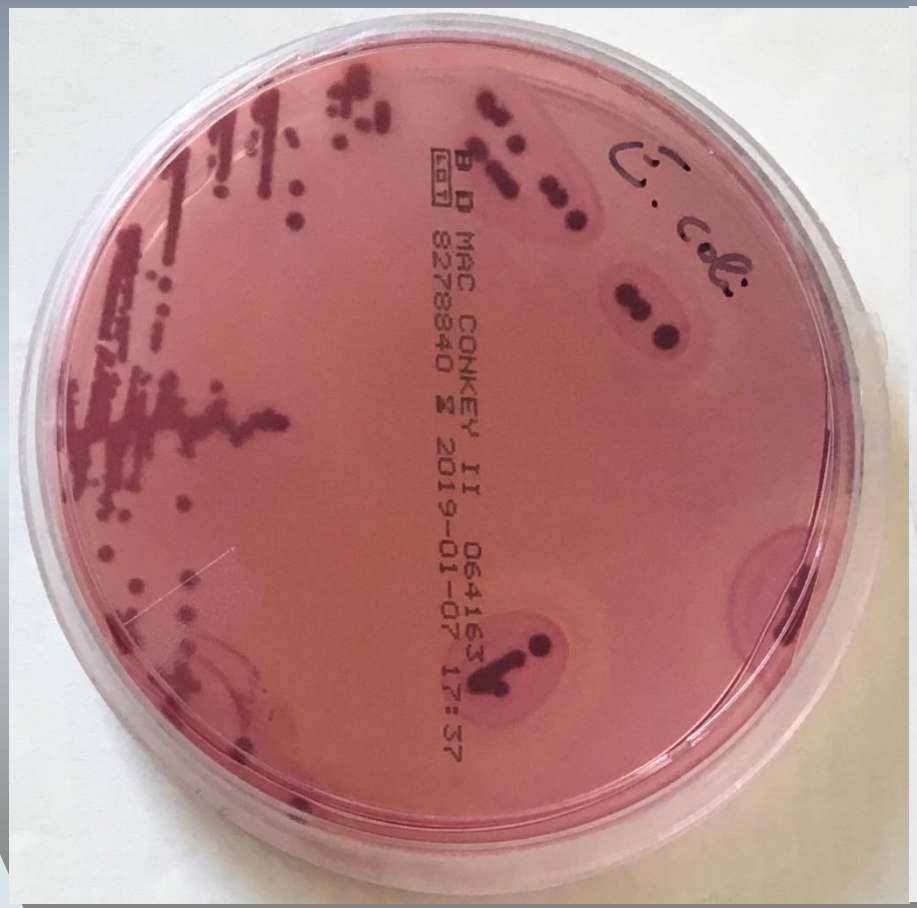
- **Mac Conkey agar** con colorante cristal-violetto che inibisce la crescita di batteri Gram positivi



TERRENI SPECIALI

TERRENI SELETTIVI

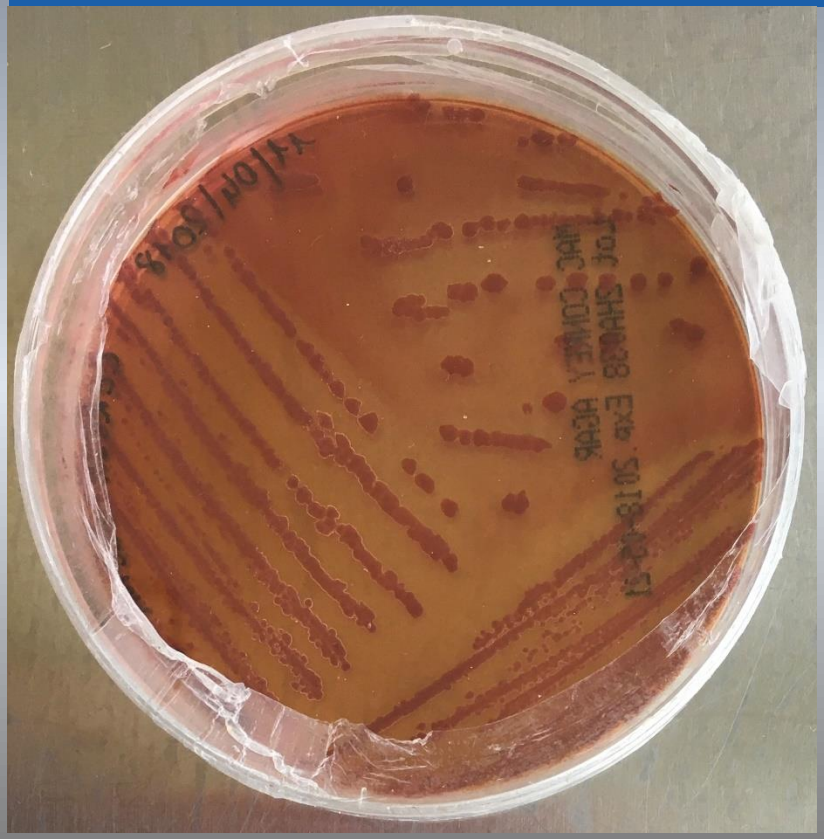
- Mac Conkey agar PER GRAM NEGATIVI

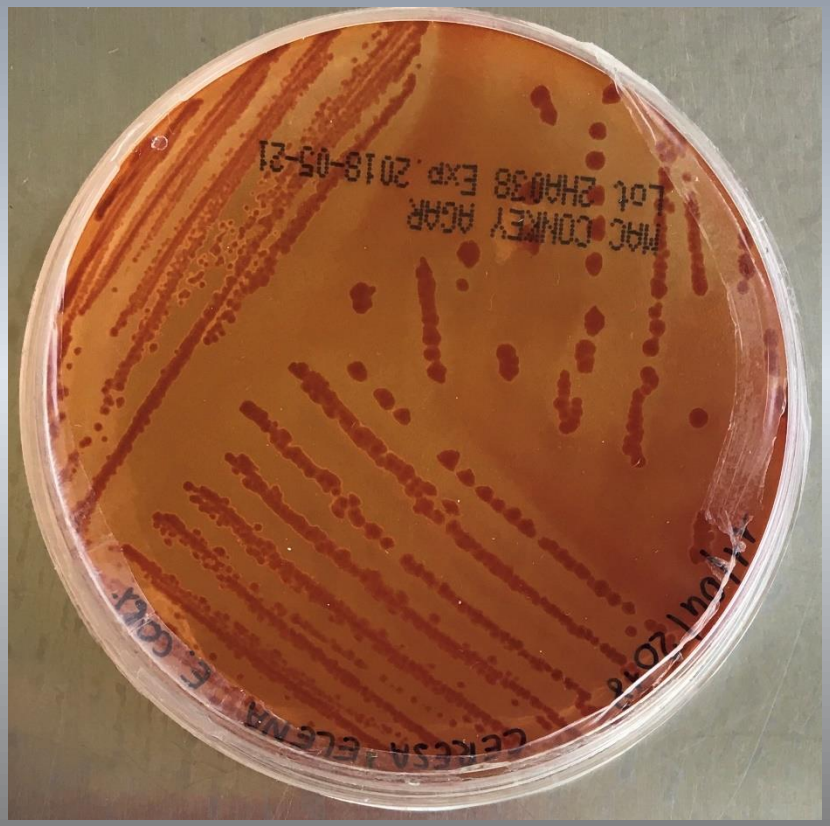


TERRENI SPECIALI

TERRENI SELETTIVI

- **Mac Conkey agar** con colorante cristal-violetto che inibisce la crescita di batteri Gram positivi

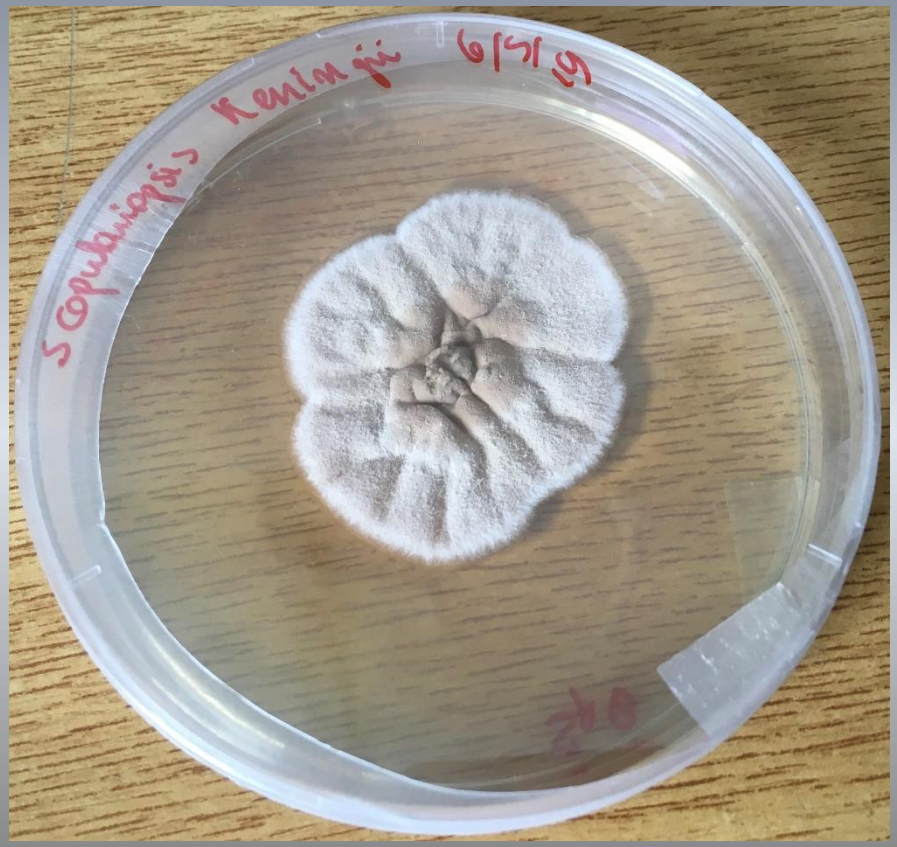




TERRENI SPECIALI

TERRENI SELETTIVI

- **Sabouraud dextrose agar** pH 4.5-6 per miceti



TERRENI SPECIALI

TERRENI SELETTIVI

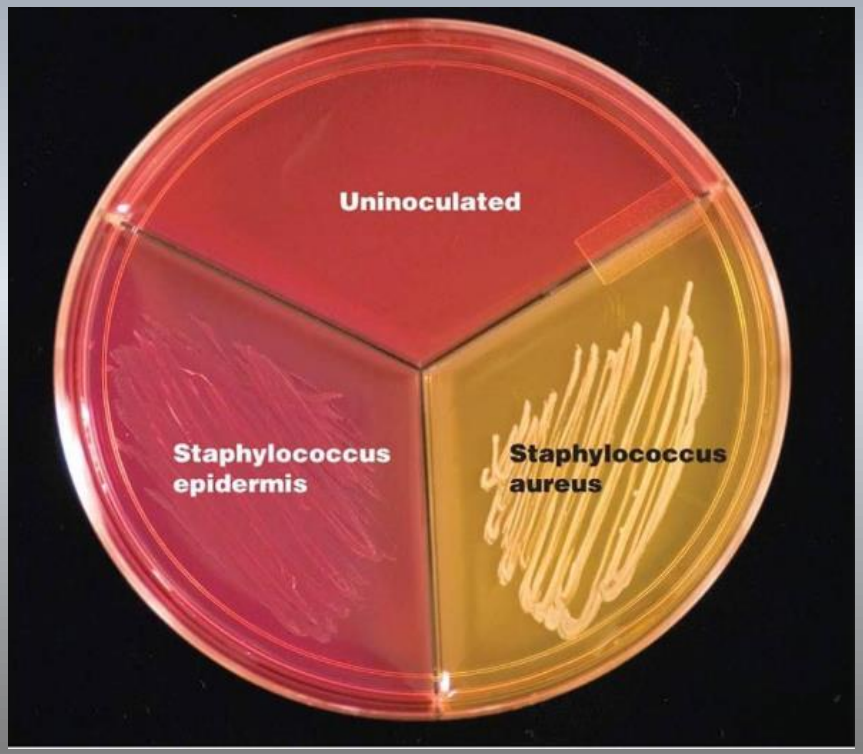
- Sabouraud dextrose agar pH 4.5-6 per miceti

TERRENI DIFFERENZIALI

- **Mannitol Salt agar** rosso fenolo
  - *Staphylococcus aureus*
  - *Staphylococcus epidermidis*
- Mac Conkey agar
- lattosio fermentanti (rosse)
- lattosio non fermentanti (incolori)
- Agar sangue
- β-emolisi (totale → area incolore)
- α-emolisi (parziale → verde)
- γ-emolisi (nessuna emolisi → rosso vivo)

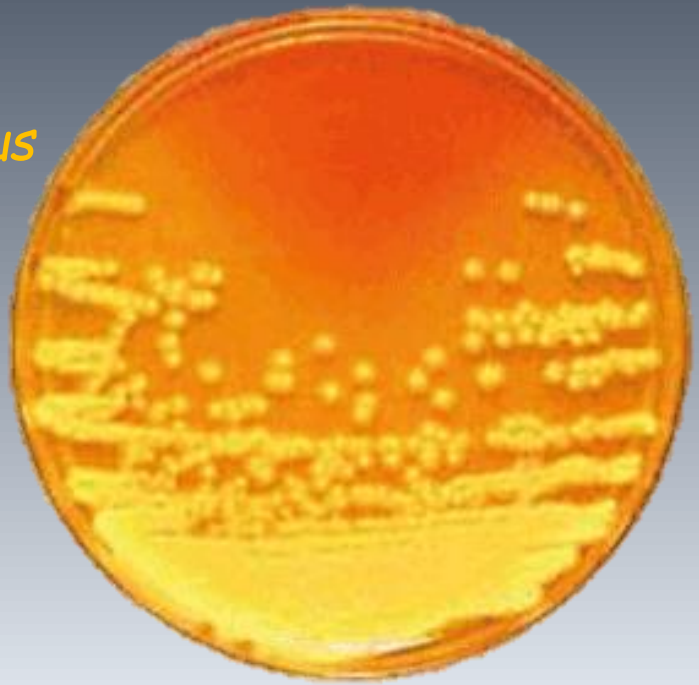
TERRENI DIFFERENZIALI

- **Mannitol Salt agar** rosso fenolo
  - *Staphylococcus aureus*
  - *Staphylococcus epidermidis*



TERRENI DI COLTURA

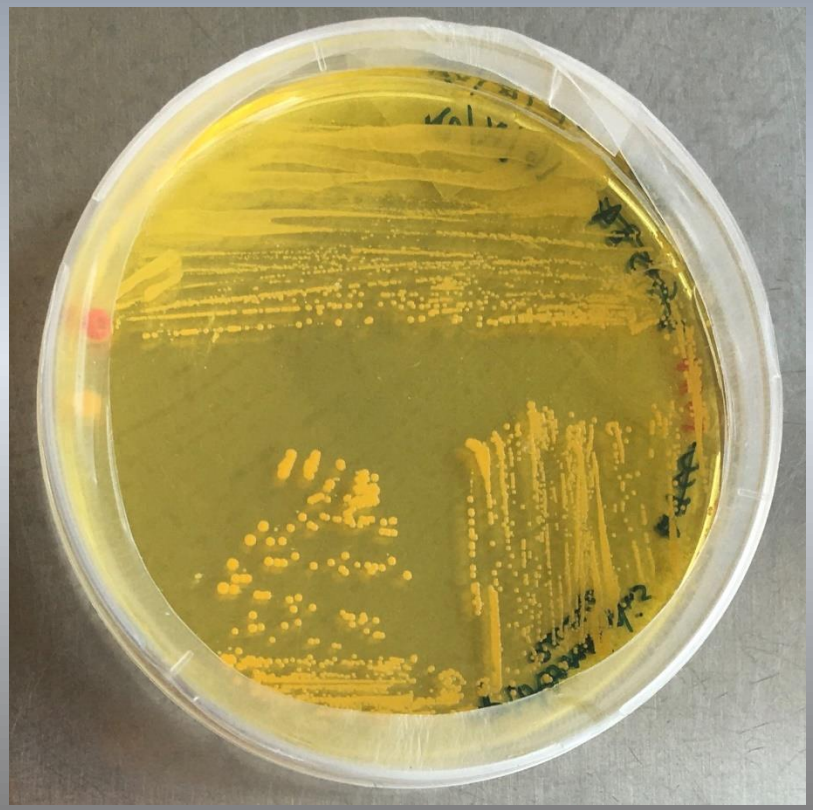
Staphylococcus aureus

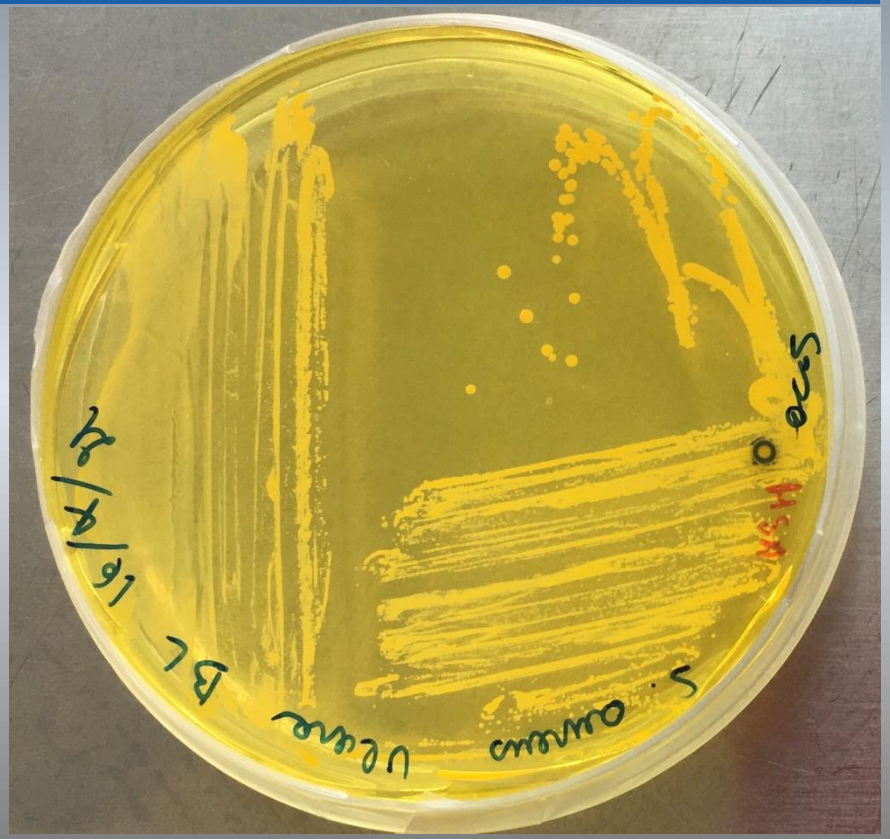


Mannitol Salt agar, colonie acidificanti (gialle)

TERRENI DIFFERENZIALI

- **Mannitol Salt agar** rosso fenolo
  - *Staphylococcus aureus*



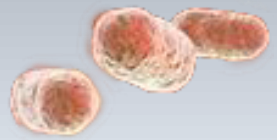


TERRENI DIFFERENZIALI

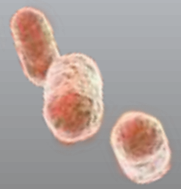
- **Mannitol Salt agar** rosso fenolo
  - *Staphylococcus aureus*

TERRENI DI COLTURA

Staphylococcus epidermidis



Mannitol Salt agar, colonie incolori



TERRENI DIFFERENZIALI

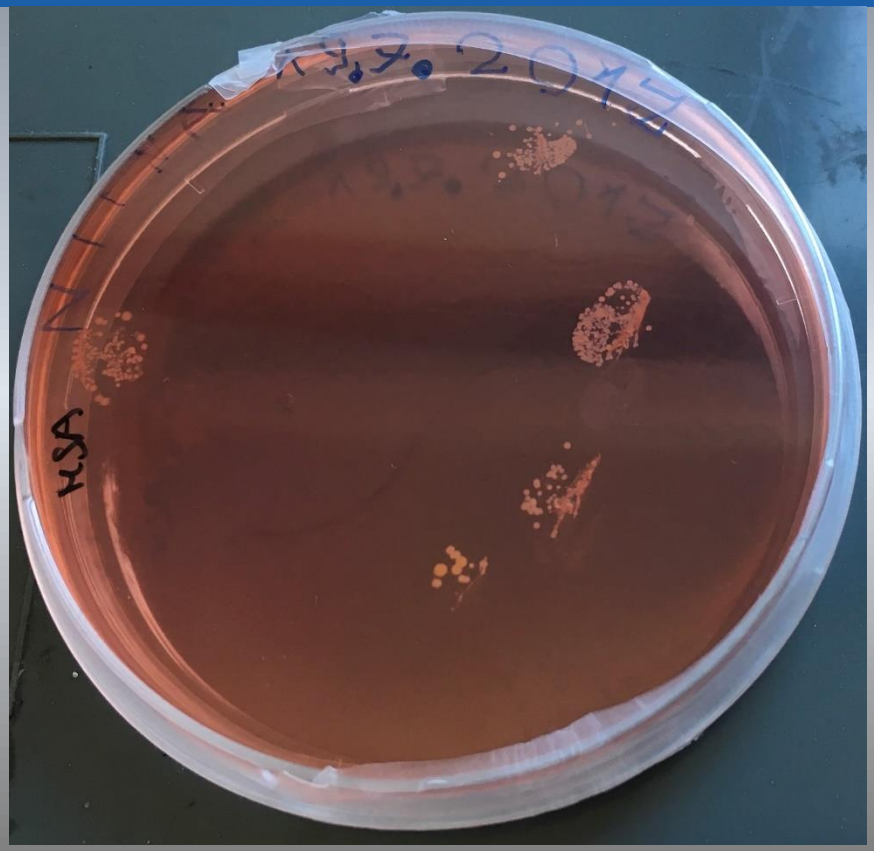
- **Mannitol Salt agar** rosso fenolo
  - *Staphylococcus epidermidis*

TERRENI DIFFERENZIALI

- **Mannitol Salt agar** rosso fenolo
  - *Staphylococcus epidermidis*

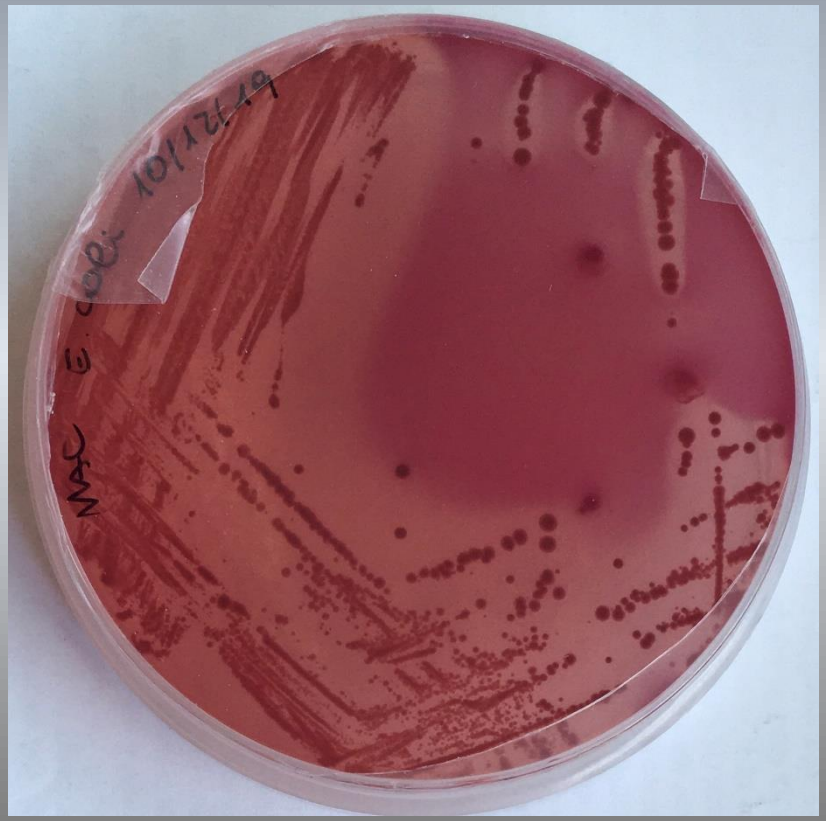
TERRENI DIFFERENZIALI

- Mannitol Salt agar rosso fenolo
  - *Staphylococcus epidermidis*



TERRENI DIFFERENZIALI

- Mac Conkey agar
- lattosio fermentanti (rosse)
- lattosio non fermentanti (incolori)



Escherichia coli

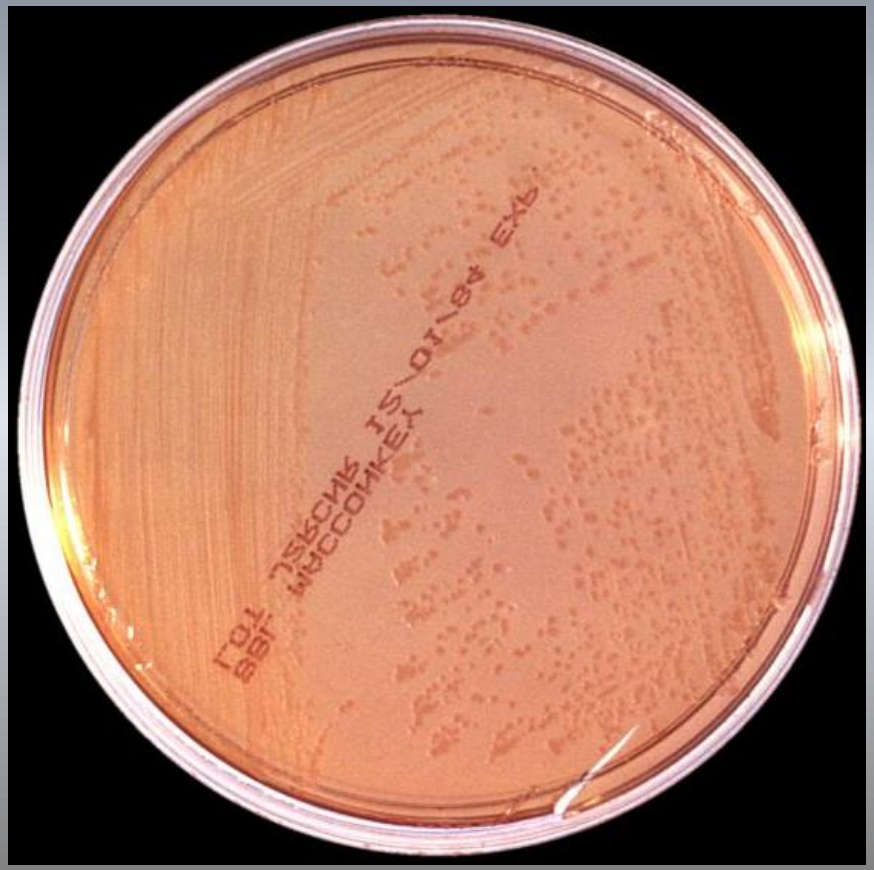
TERRENI DI COLTURA

Escherichia coli, Klebsiella spp.

MacConkey agar, colonie acidificanti (rosse)

TERRENI DIFFERENZIALI

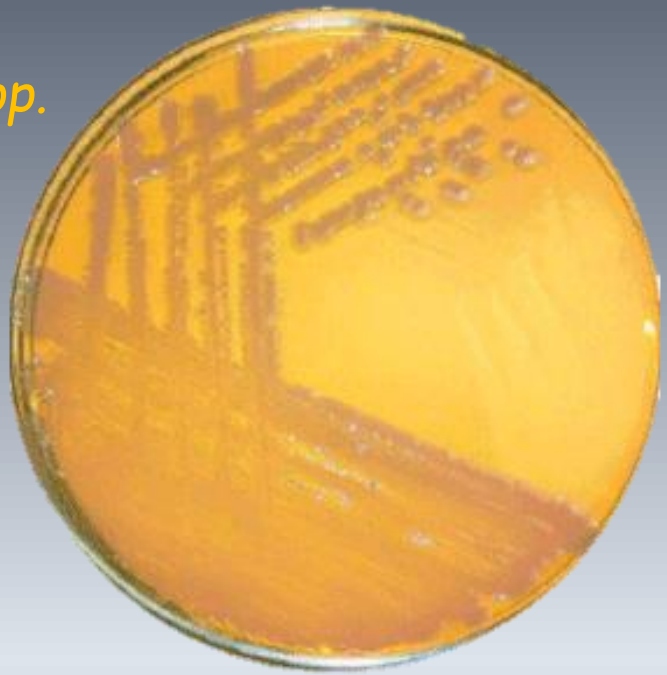
- Mac Conkey agar
- lattosio non fermentanti (incolori)



Proteus vulgaris

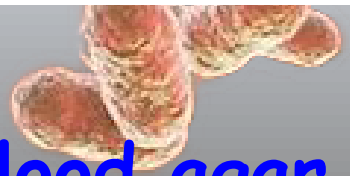
TERRENI DI COLTURA

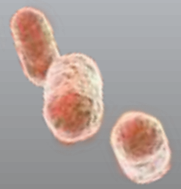
Proteus spp.



MacConkey agar, colonie incolori

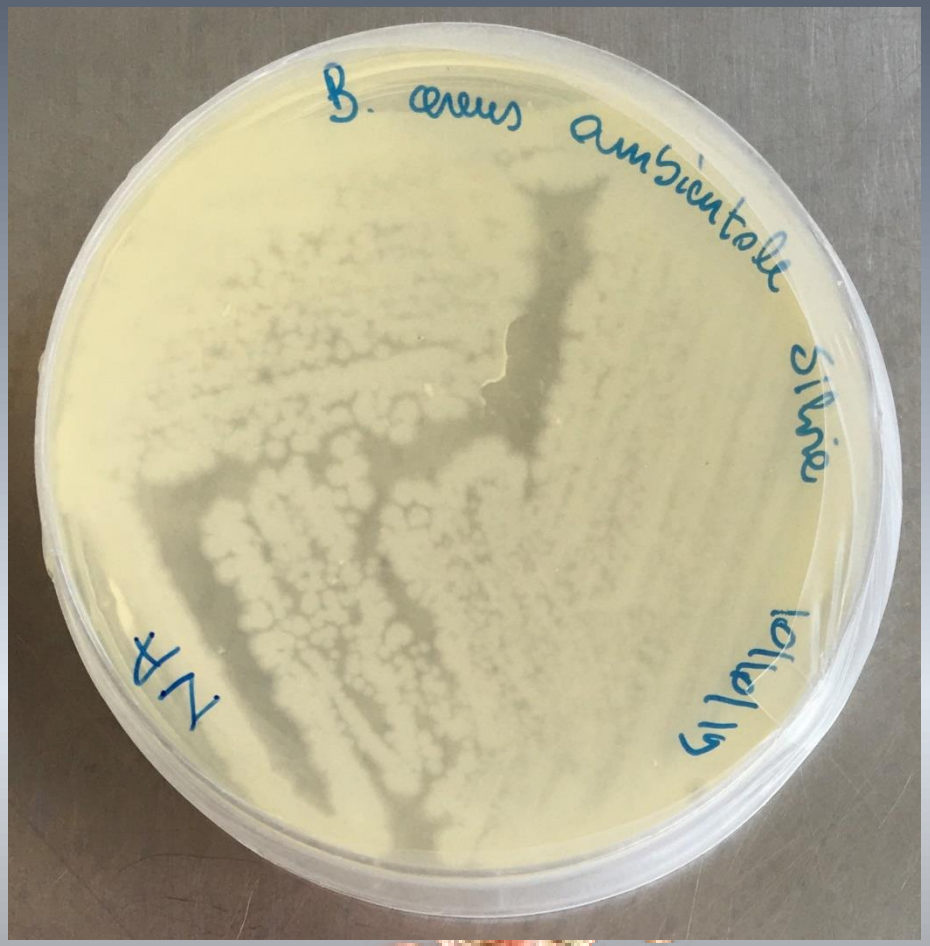
TERRENI DI COLTURA





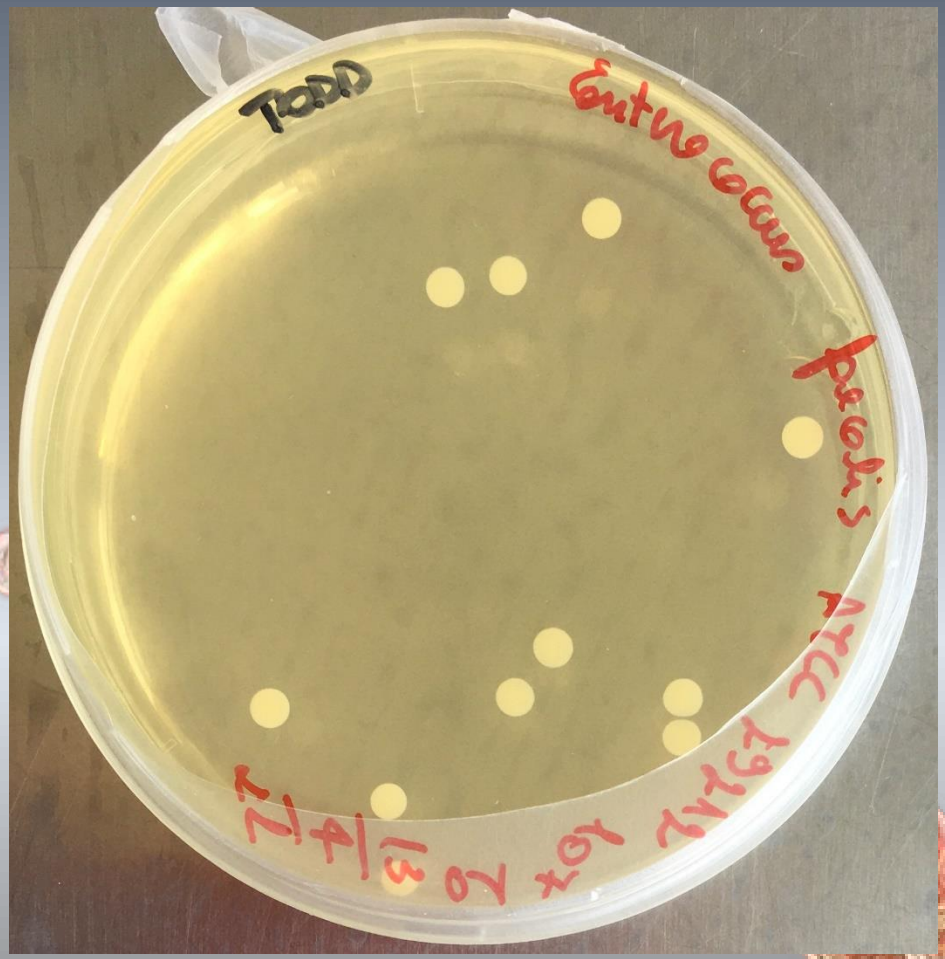
Columbia Blood agar base

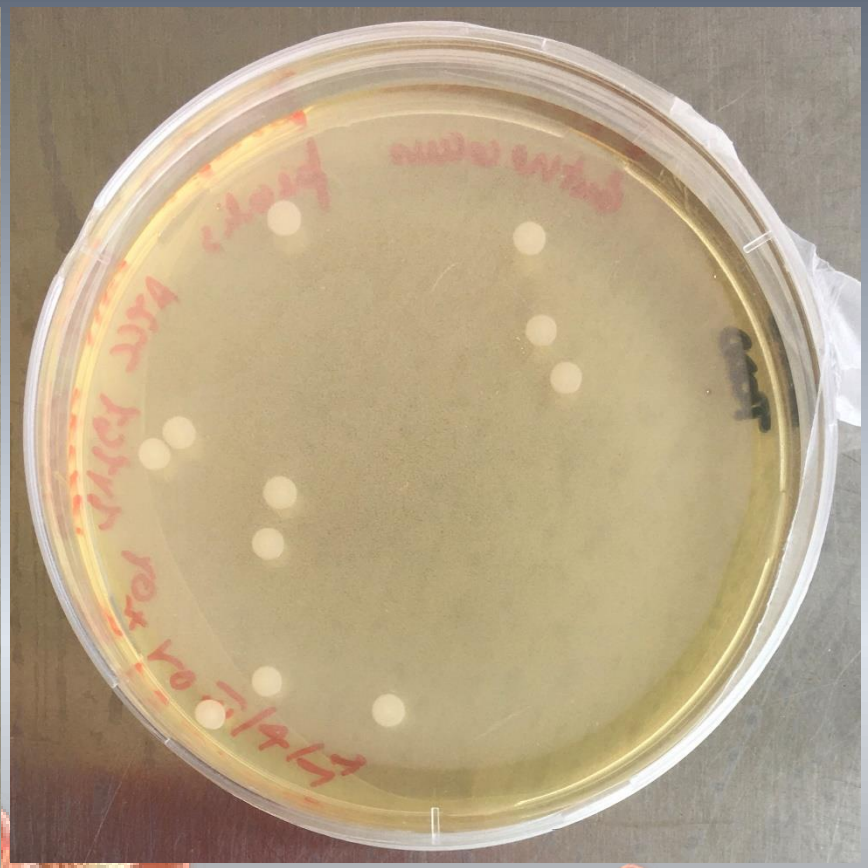
TERRENI DI COLTURA



Nutrient agar

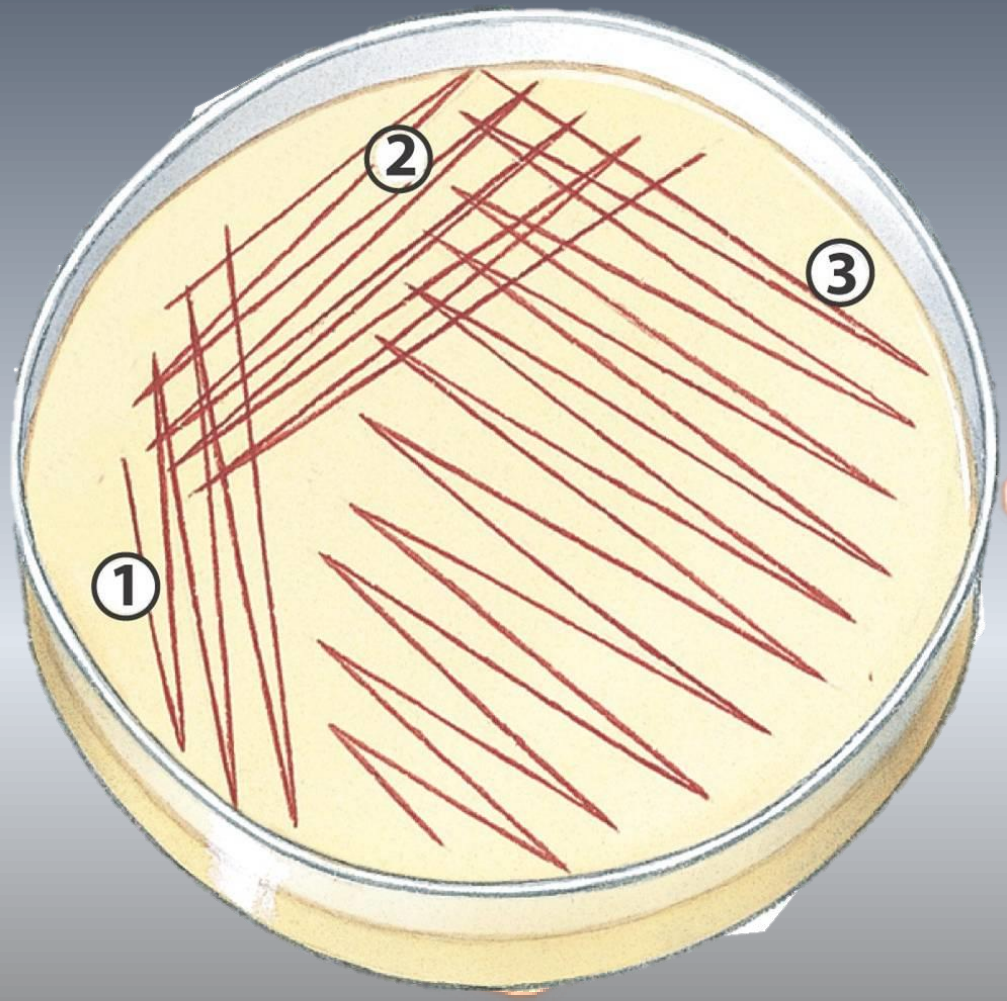
TERRENI DI COLTURA



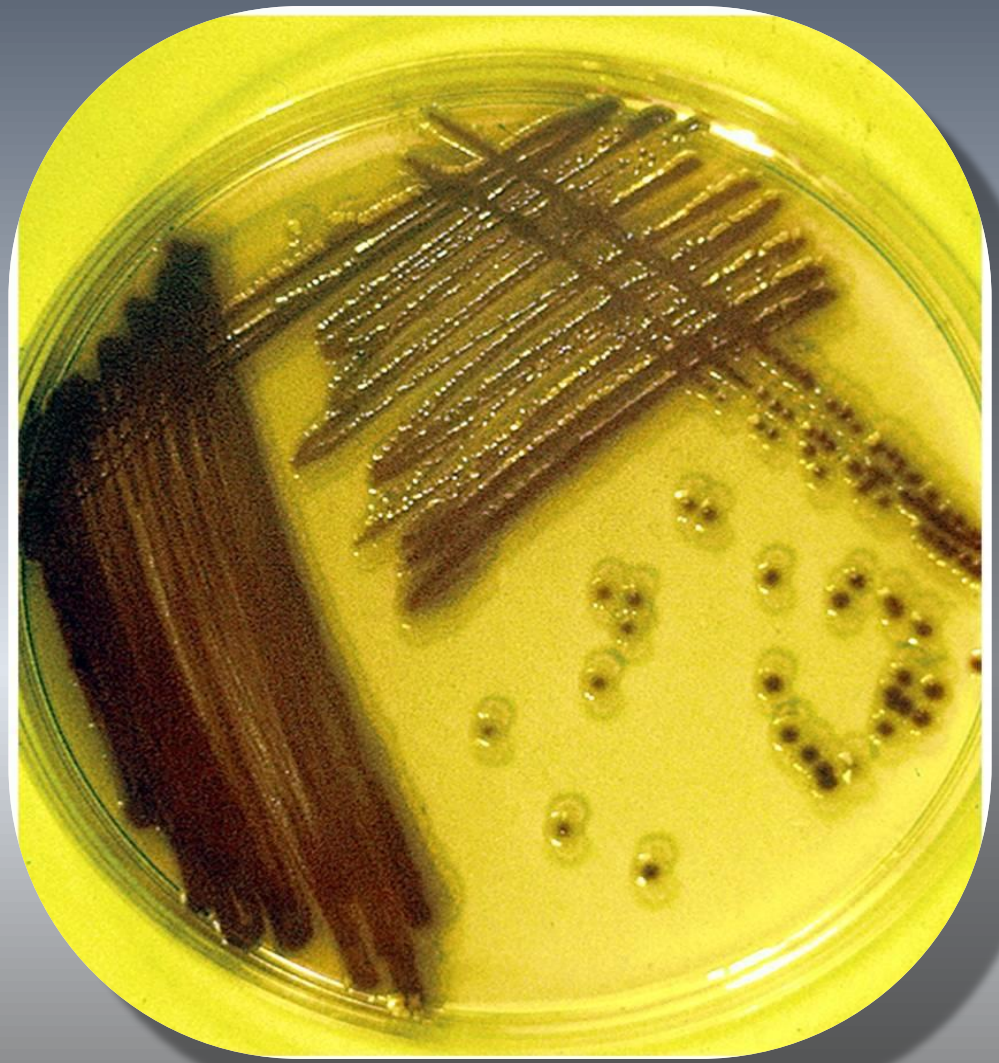


TODD per streptococchi

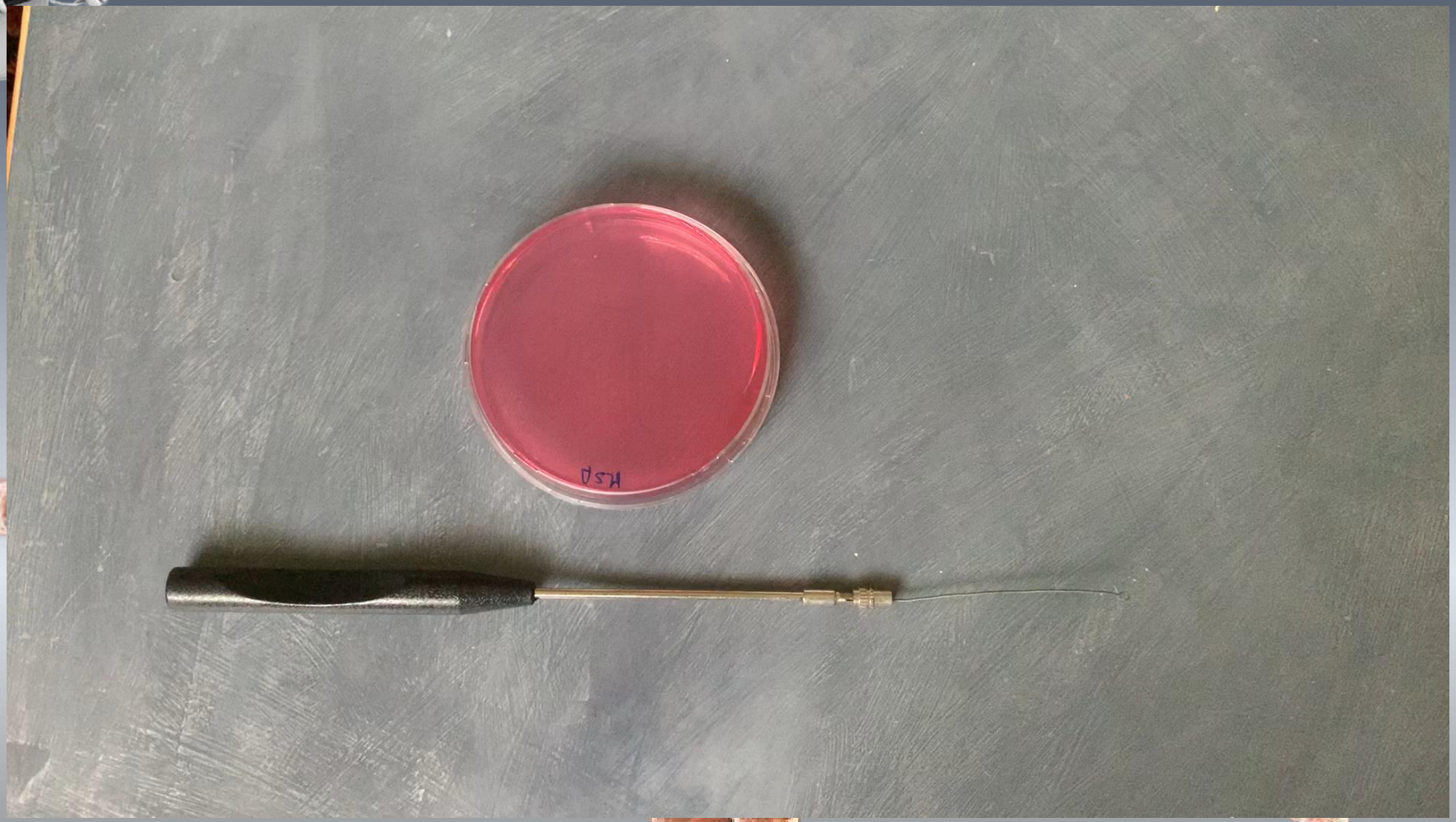
TECNICHE DI SEMINA



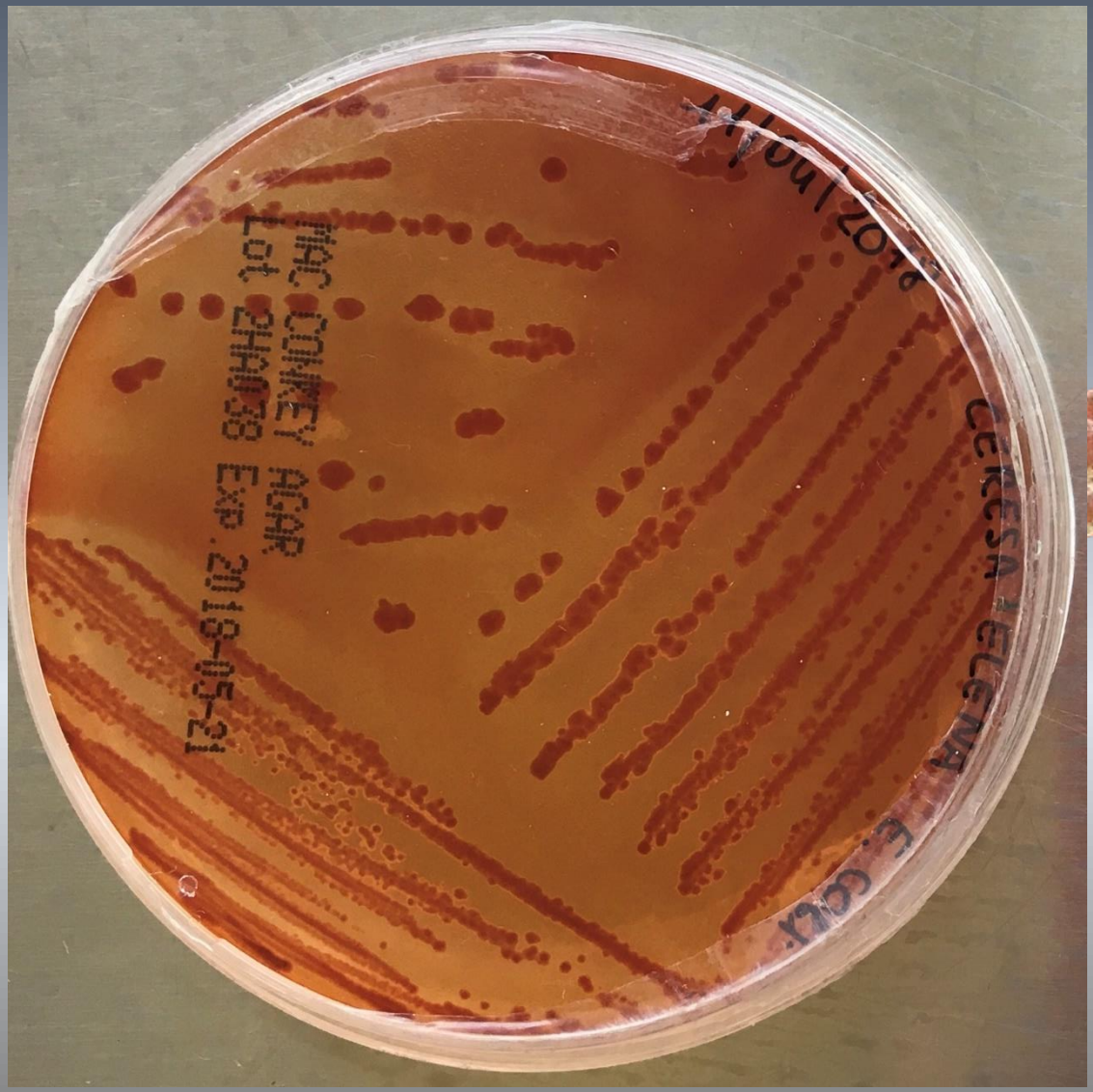
TECNICHE DI SEMINA



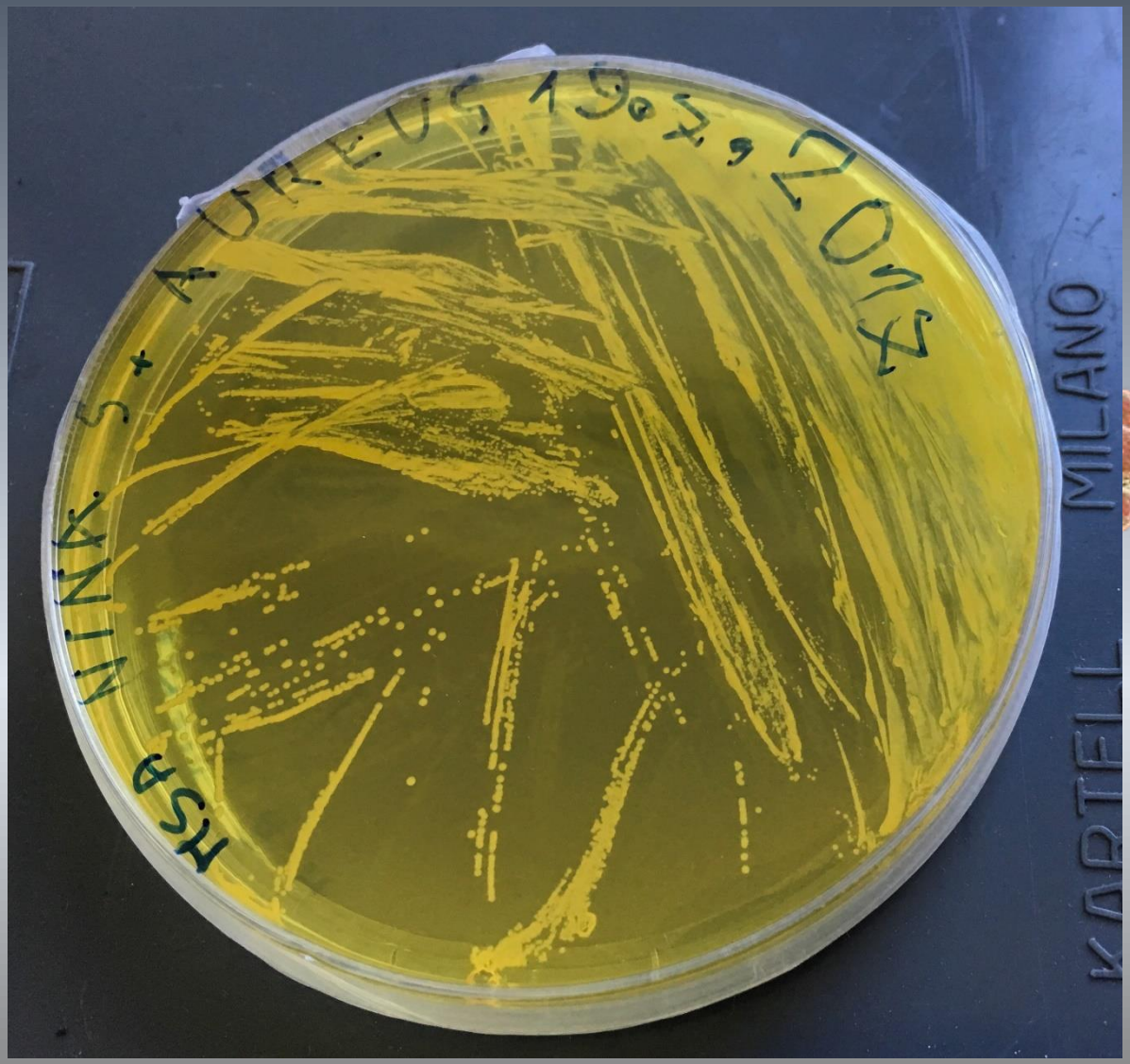
TECNICHE DI SEMINA



TECNICHE DI SEMINA



TECNICHE DI SEMINA



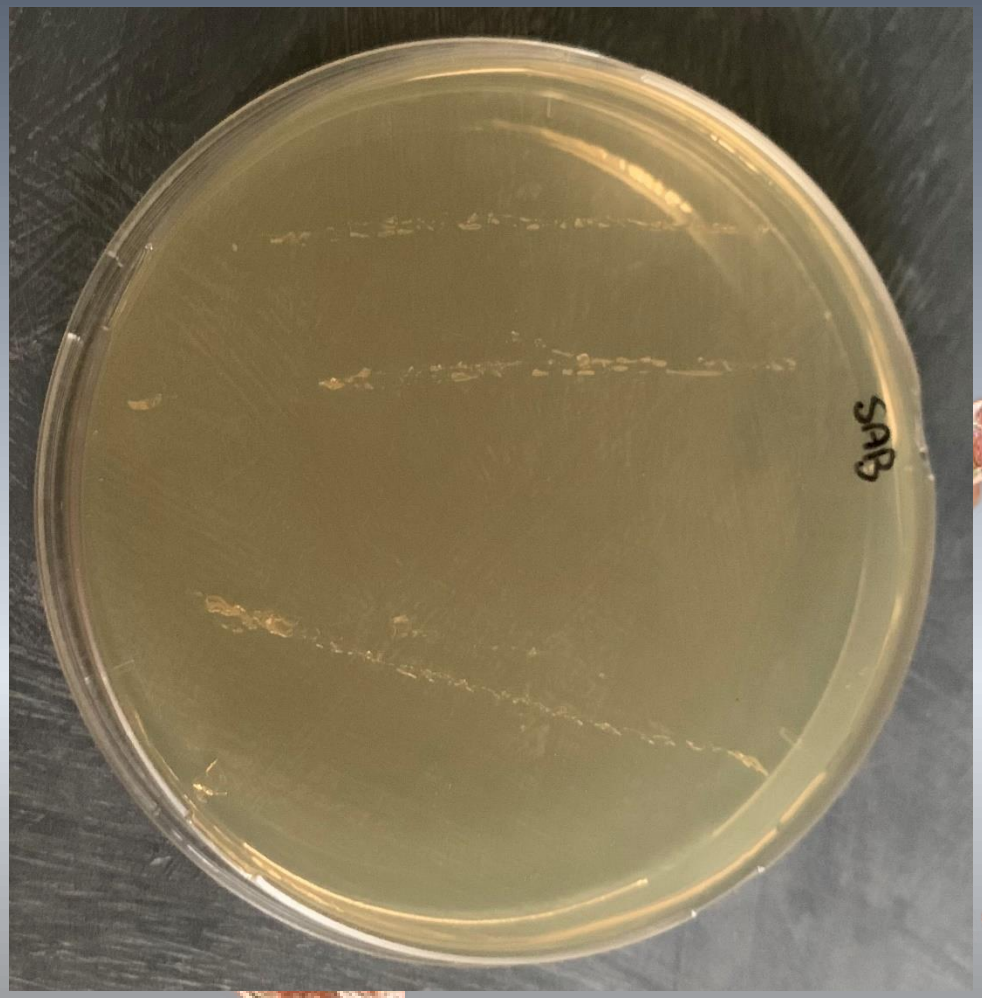
NO

TECNICHE DI SEMINA

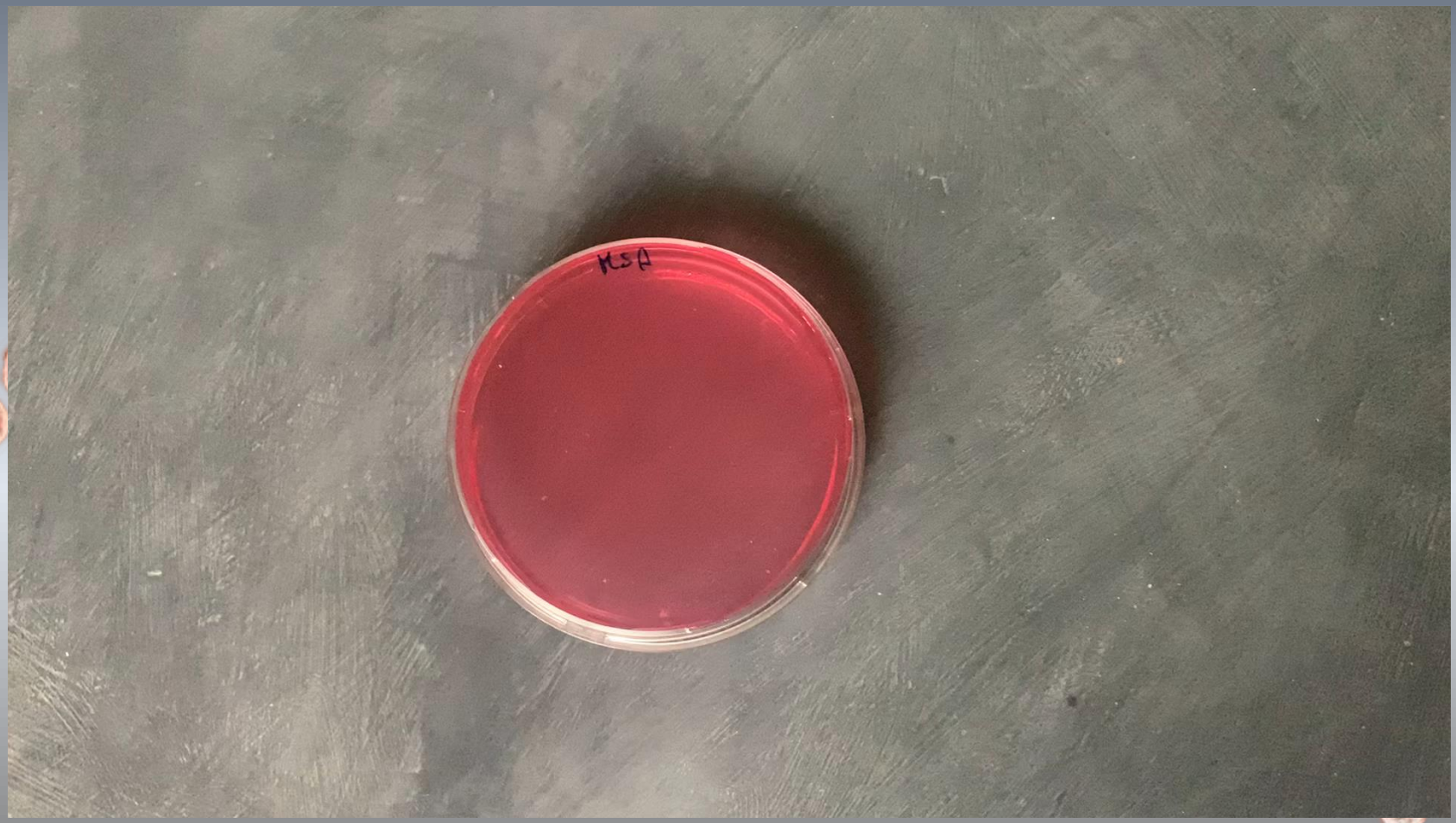
TECNICHE DI SEMINA

TECNICHE DI SEMINA

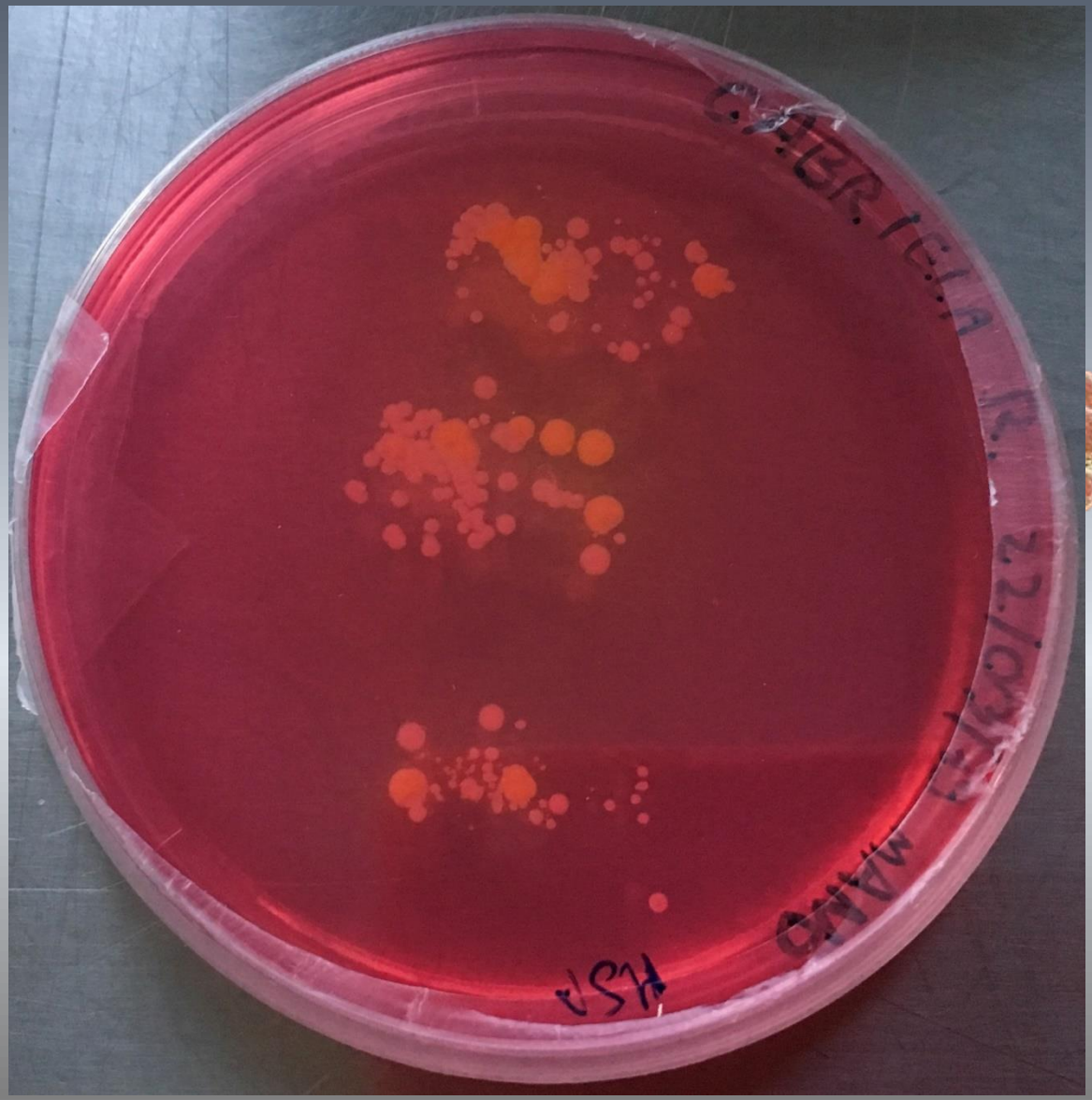
ZAPPATO!!!!!



TECNICHE DI SEMINA

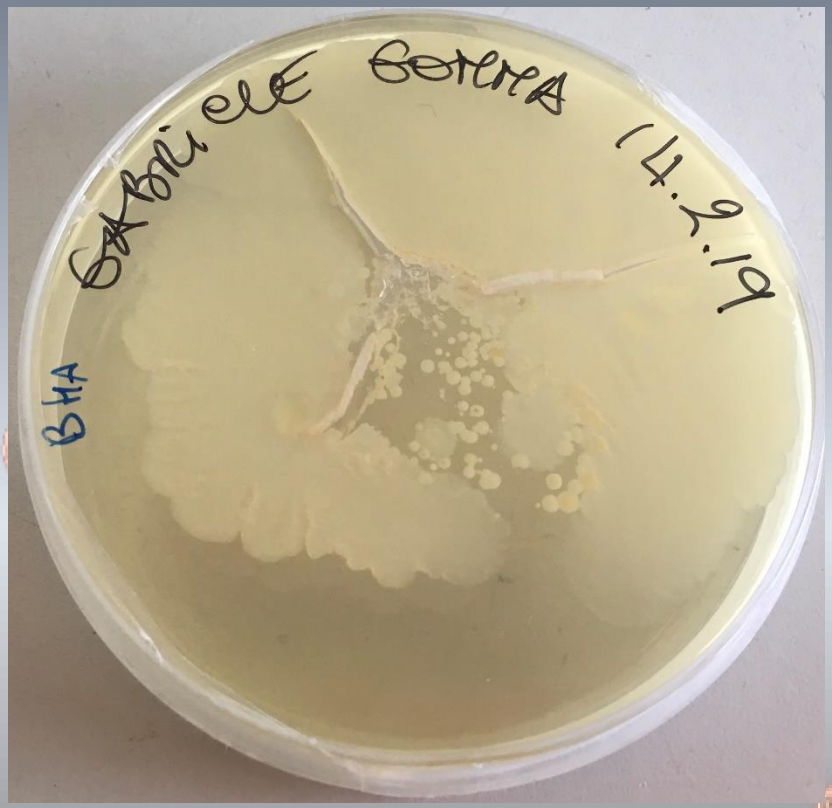


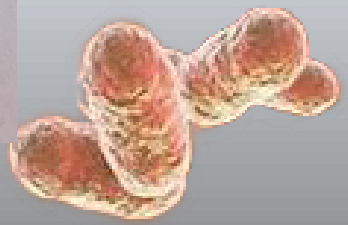
TECNICHE DI SEMINA

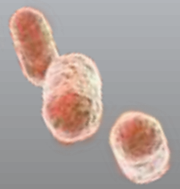


TECNICHE DI SEMINA

TECNICHE DI SEMINA

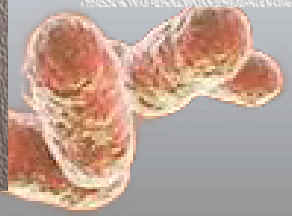


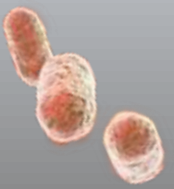




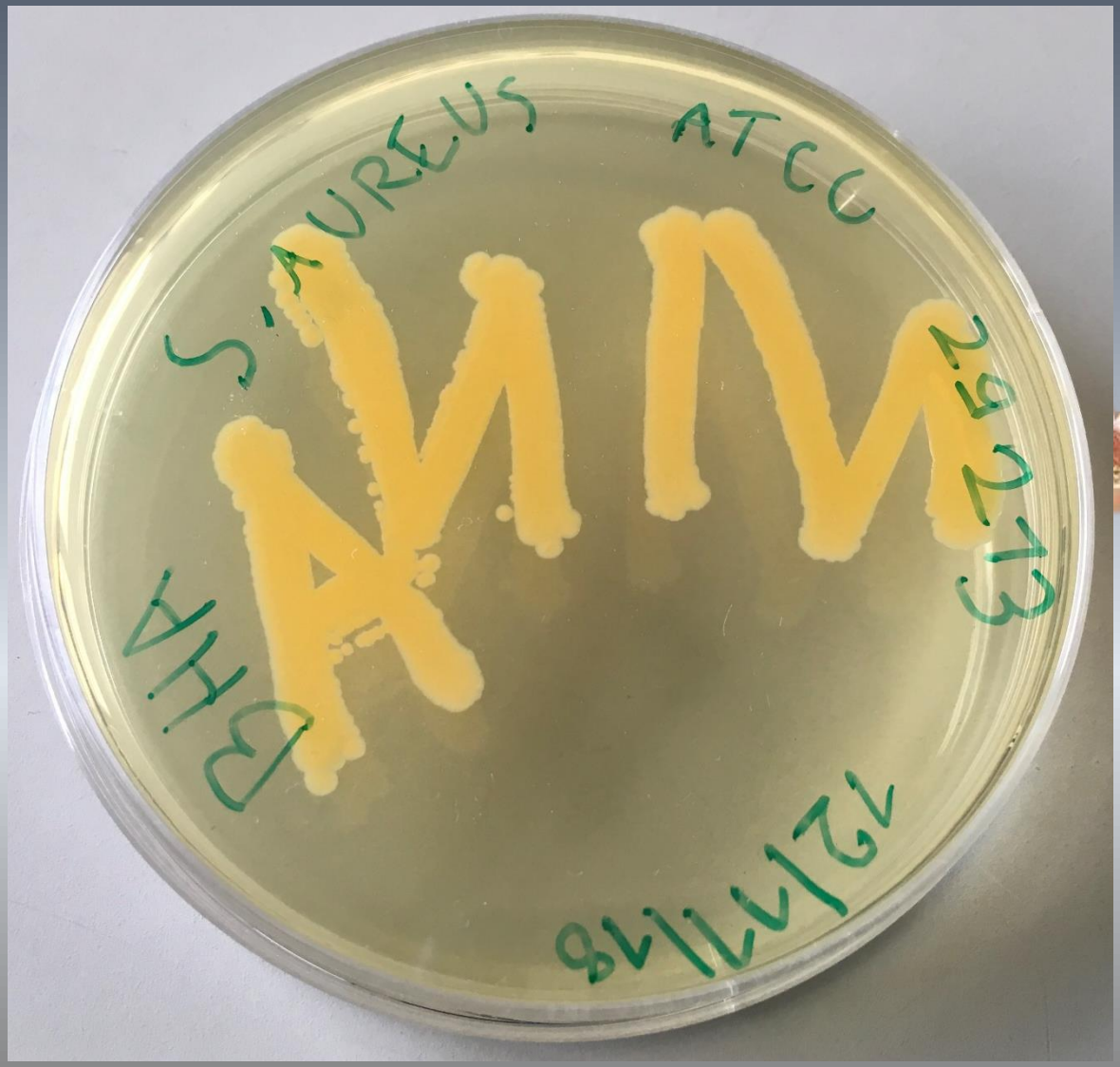
TECNICHE DI SEMINA

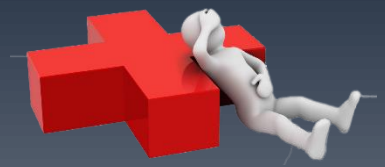
TECNICHE DI SEMINA



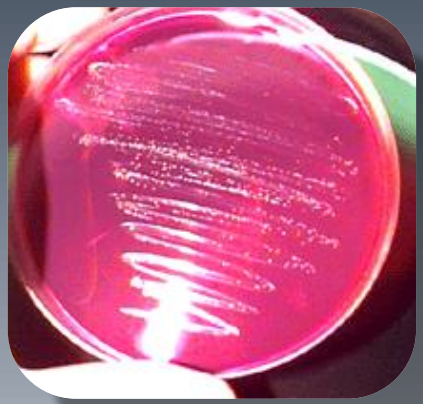


TECNICHE DI SEMINA



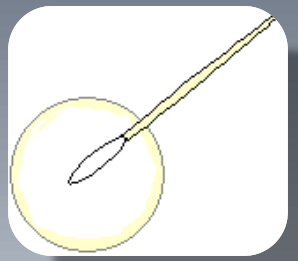


TECNICHE DI SEMINA

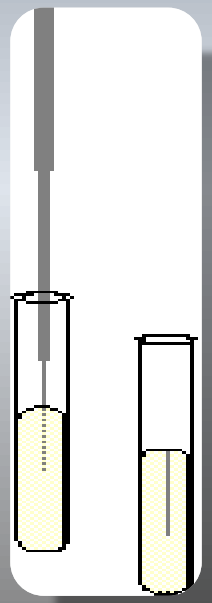


Spatolamento e Agar germi

La crescita si manifesta con formazione di una patina più o meno omogenea.



Si utilizza questa semina con un ago per inoculare terreni solidificati in provetta. L'ago consente di inserire le cellule lungo una linea verticale e in profondità, per permettere lo sviluppo dei batteri anaerobi e favorire l'osservazione di forme mobili che si diffondono a partire dalla linea dell'inoculo



TECNICHE DI SEMINA

https://slideplayer.it/slide/10237119/

Per qualunque domanda o problema puoi contattarmi al

- Tel: **3386428032**
- e-mail: vivian.tullio@unito.it