

Laboratorio di Microbiologia

Protocollo sperimentale

- **Crescita microbica ed effetto della temperatura sulla crescita**
- **Analisi dell'inibizione della crescita microbica**

- Leggere l'assorbanza allo spettrofotometro (lunghezza d'onda 600nm) prelevando sterilmente 1ml di 3 colture di 15ml del ceppo di *Escherichia coli* DH5 α precedentemente inoculate;
- Incubare quindi le 3 beute a 37°C con agitazione e seguire la curva di crescita: dopo 30' prelevare da ciascuna beuta sterilmente aliquote da 1ml e leggere l'assorbanza allo spettrofotometro (O.D. 600nm); ripetere le letture ogni 30';
- Raggiunta l'assorbanza di 0,4-0,5 O.D. trasferire una delle colture (**BEUTA 1**) a temperatura ambiente (circa 20°C) e aggiungere all'altra coltura (**BEUTA 3**) 100 μ g/ml di Ampicillina a partire da una soluzione di 5mg/ml.

Continuare l'incubazione a 37°C seguendo la curva di crescita.

Le letture così ottenute saranno riportate su carta semilogaritmica in modo da ottenere la curva di crescita del ceppo batterico nelle due diverse condizioni di temperatura e in presenza di antibiotico. Ottenuto il grafico si calcolerà il tempo di generazione e la velocità di crescita nelle diverse condizioni.

- **Isolamento di colonie singole su terreno solido;**

 - **Identificazione di diverse specie batteriche mediante test dell'attività catalasica ed osservazione al microscopio;**
- Deposare su una piastra Petri, vuota e sterile, due gocce di H₂O₂ al 3%;
 - Da due piastre contenenti colonie isolate di due specie batteriche diverse, prelevare con uno stuzzicadenti sterile una colonia singola di ciascuna specie;
 - Stemperare ciascuna colonia nella goccia di H₂O₂ ed osservare quale dei due ceppi sviluppa O₂ e contiene l'enzima catalasi.
-
- Deposare su un vetrino per microscopio due gocce di H₂O;
 - Da due piastre contenenti colonie isolate di due specie batteriche diverse, prelevare con uno stuzzicadenti sterile una colonia singola di ciascuna specie;
 - Stemperare ciascuna colonia nella goccia di H₂O posta sul vetrino e coprire con un vetrino coprioggetto;
 - Osservare al microscopio ottico ad immersione e descrivere le caratteristiche delle cellule osservate.