

# CRESCITA E CONTROLLO DELLA CRESCITA DEI MICRORGANISMI

## CONTA MICROBICA IN PIASTRA



a cura di Massimo Trauzzola e Rossana Baglioni

### OBIETTIVO:

Determinare il numero complessivo di microrganismi presenti in un determinato campione (carica microbica totale): analisi quantitativa.

### PRINCIPIO:

Ogni cellula microbica viva, inoculata in piastra per inclusione e incubata, si riproduce formando una colonia isolata. Contando le colonie sviluppatesi nel terreno si può risalire al numero di microrganismi presenti in un volume noto del campione.

### MATERIALI E STRUMENTI:

#### MATERIALI BIOLOGICI

Colture batteriche

#### TERRENI DI COLTURA

Nutrient agar

#### VETRERIA, ...

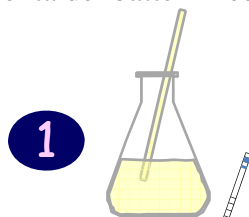
Beute, cilindri, bacchette, provette, piastre sterili, ansa, pipette sterili da 1 ml

#### STRUMENTI

Bilancia, autoclave, termostato, bunsen

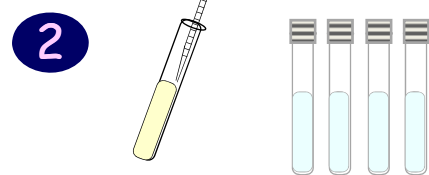
### METODICA

Conta dei batteri mediante semina per inclusione in piastra (previa diluizione in serie)



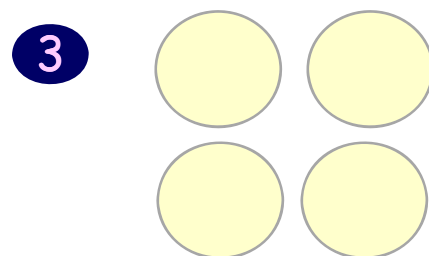
1

Preparare il terreno agar nutrient e sterilizzarlo.



2

Partendo dalla sospensione in esame, preparare diluizioni scalari 1:10, 1:100, 1:1000 come segue: prelevare, con una pipetta sterile, 1 ml del campione in esame e porlo in una provetta contenente 9 ml di soluzione fisiologica sterile. Ripetere l'operazione per le successive diluizioni cambiando opportunamente la pipetta ogni volta.



3

Numerare 4 piastre

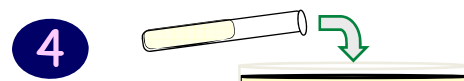
$10^0$  campione non diluito

$10^{-1}$  fattore di diluizione 1:10

$10^{-2}$  fattore di diluizione 1:100

$10^{-3}$  fattore di diluizione 1:1000

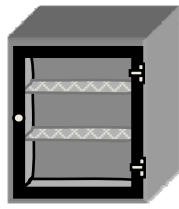
quindi seminarci 0,1 ml di ogni diluizione.



4

Versare il terreno sterile mantenuto fuso a b.m. nelle piastre seminate, chiuderle e miscelare con un movimento rotatorio, lasciar solidificare.

5



Incubare a 37° per 48h poi contare al contacolonie, le colonie ben isolate quando sono comprese tra 100 e 300.

Le colonie crescono sia in superficie che in profondità e se la semina è stata fatta bene, le colonie saranno in progressiva diminuzione, di aspetto uniforme e più piccole dove il numero è maggiore.

Predisporre una tabella per i risultati

	n. colonie	n. colonie	n. colonie	n. colonie
	10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>
Campione 1				
Campione 2				
Campione 3				

Dalla conta si risale al numero di batteri/ml nelle sospensioni in esame mediante la seguente formula:

$$N = n * 1/d * 1/V$$

N= numero di germi/ml del campione puro

n= numero di colonie nella piastra

1/d= reciproco della diluizione dell'inoculo in quella piastra

1/V= reciproco della frazione di volume considerato (1ml) utilizzato per l'inoculo 1/10 di ml

