

VALUTAZIONE DELL'AZIONE INIBENTE DI ALCUNI DISINFETTANTI DI USO COMUNE

a cura di Massimo Trauzzola e Rossana Baglioni



OBIETTIVO:

Confrontare l'attività inibente di alcuni disinfettanti utilizzati comunemente per usi sanitari e domestici.

PRINCIPIO:

Il potere antibiotico di alcuni composti chimici può essere valutato indagando la loro capacità di inibire la crescita di microrganismi. Il metodo utilizzato è quello della diffusione in agar basato sull'uso di dischetti di carta da filtro sterili imbevuti del composto da saggiare. I dischetti, disposti sulla superficie del terreno agarizzato, seminato con un ceppo microbico standardizzato, permettono la diffusione del disinfettante nel terreno. Dopo incubazione si osserverà intorno al dischetto un alone di inibizione della crescita che avrà un diametro tanto più grande quanto più efficace sarà il disinfettante.

MATERIALI E STRUMENTI:

MATERIALI BIOLOGICI

Ceppi di *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus subtilis*

MATERIALI CHIMICI

Alcool denaturato, tintura di iodio, acqua ossigenata 10 volumi, amuchina, ammoniaca e candeggina di uso commerciale.

TERRENI DI COLTURA

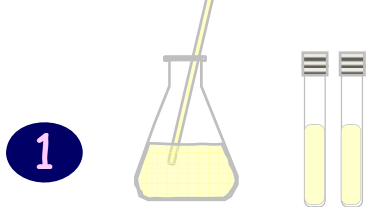
TSB, TSA

VETRERIA, STRUMENTI

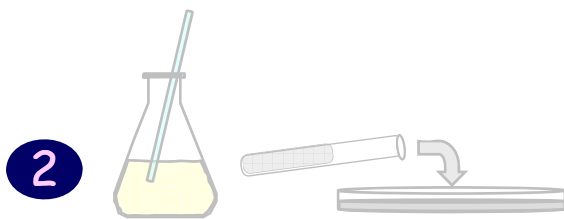
Beute, cilindri, bacchette, provette 16x100, piastre sterili, beker, dischi di carta da filtro sterili con diametro di 6 mm, tamponi sterili, pinze, ansa, bilancia, autoclave, termostato, contacolonie, bunsen

METODICA

(1ª FASE 1° parte)

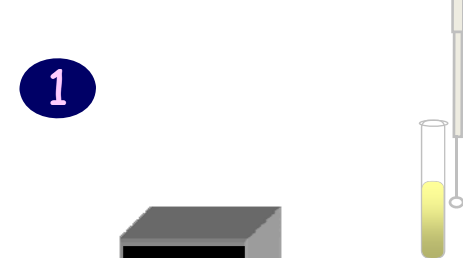


Preparare delle provette contenenti 5 ml di TSB, sterilizzarlo per gli inoculi dei ceppi batterici.

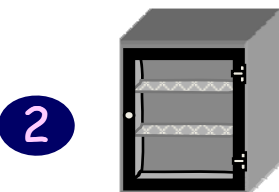


preparare, sterilizzare e piastrare il TSA doppio volume (40 ml a piastra).

(1ª FASE 2° parte)



Seminare i brodi prelevando circa 4-5 ansate di ogni ceppo batterico.



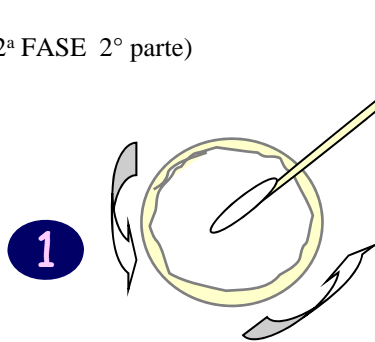
Incubare per 18 h a 37° C.

METODICA
(2^a FASE 1° parte)

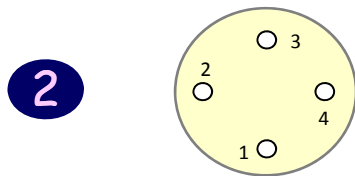


Standardizzare l'inoculo confrontando la torbidità della brodocoltura con quella dello standard MacFarland, (tale standard corrisponde circa a 10⁸ batteri/ml) usare brodo sterile per eventuali diluizioni della brodocoltura.

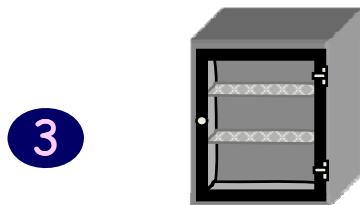
(2^a FASE 2° parte)



Seminare, con un tampone sterile in maniera uniforme, ripetendo l'operazione più volte ruotando la piastra di 60°, i ceppi batterici.



Segnare sul fondo delle piastre la posizione in cui deporre i dischi imbevuti indicando con un numero il composto da saggiare. Testare, per ogni ceppo batterico, i disinfettanti più un dischetto imbevuto con acqua sterile come controllo. Con le pinze sterili deporre i dischi sulla superficie dell'agar dopo averli imbevuti dei campioni di disinfettante.



Incubare le piastre a 37° per 24 h.

METODICA
(3^a FASE)

La misura degli aloni di inibizione viene fatta su un contacolonie o su fondo scuro, con u-n millimetro, compilare poi una tabella con i risultati segnando con + o con – la presenza o l'assenza di aloni.

	<i>Ceppo 1</i>	<i>Ceppo 2</i>
1 alcool denaturato		
2 tintura di iodio		
3 acqua ossigenata		
4 amuchina		
5 ammoniaca		
6 candeggina		

