

La vera storia dei terreni di coltura e della microbiologia moderna comincia con

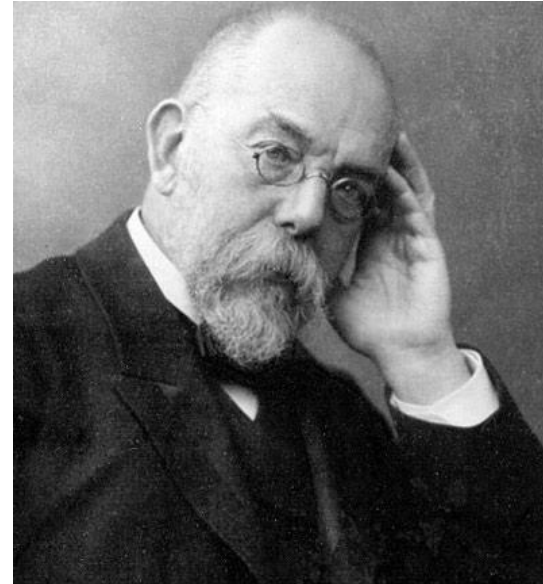
Robert Koch (1843-1910)

**Autore della "teoria del germe"
(un germe una malattia)**

Autore dei celeberrimi postulati

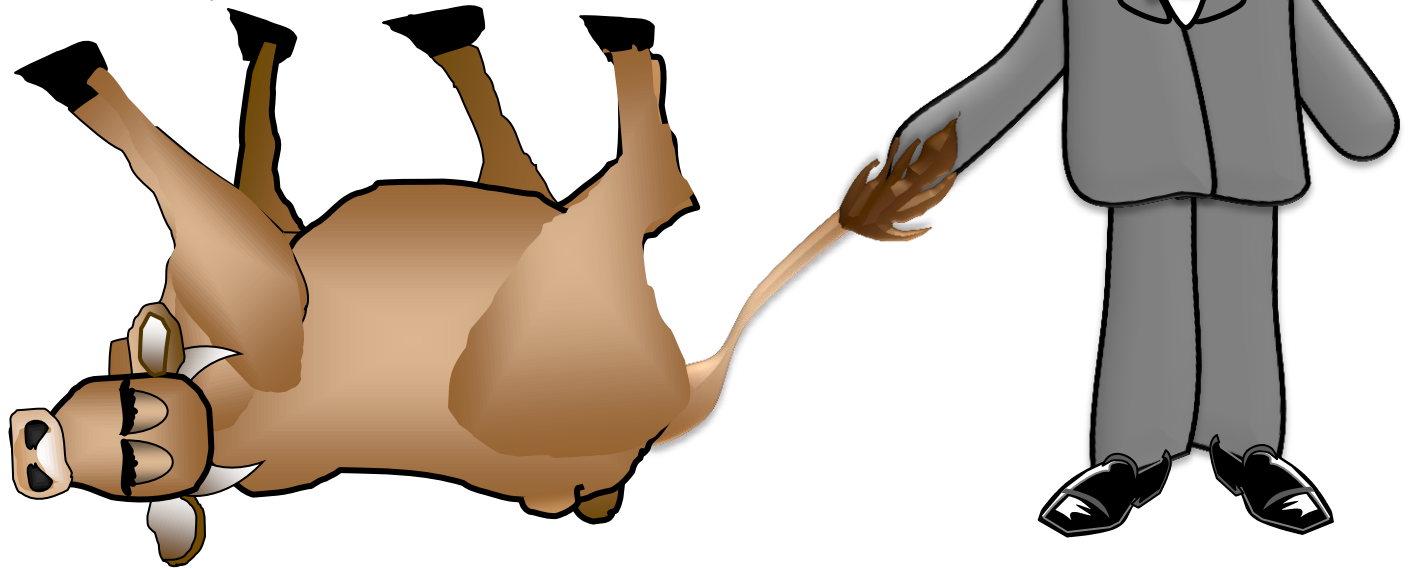
**Scoprì la causa dell'antrace, del
colera, della tubercolosi..**

**Nel 1905 gli fu assegnato il
Nobel per la medicina**



Ma nel 1870 era solo un medico di campagna di 27 anni a Wollstein, una cittadina di provincia tra Berlino e Breslavia

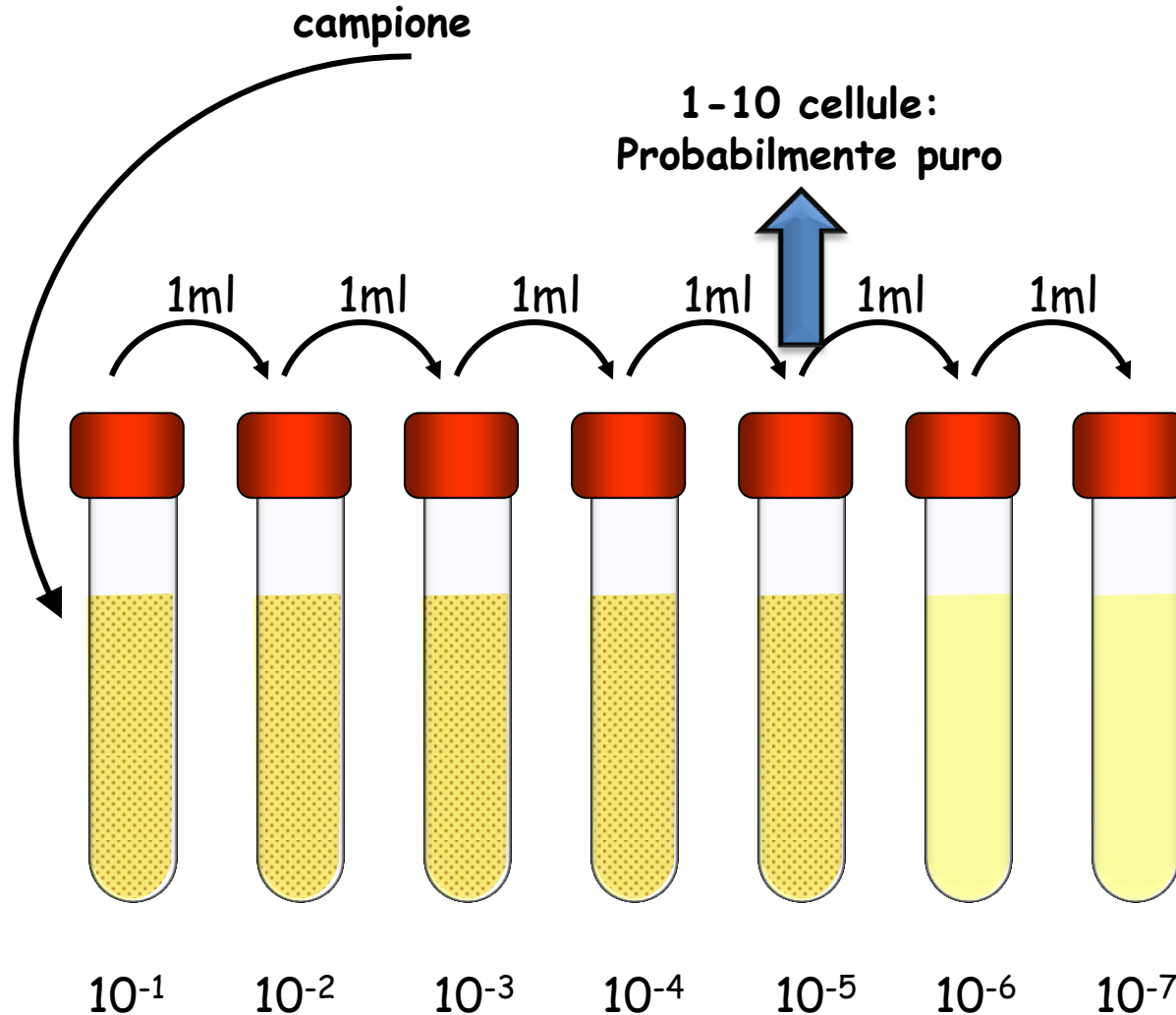
cercava di individuare la cause del "carbonchio" lavorando a casa, con mezzi di fortuna



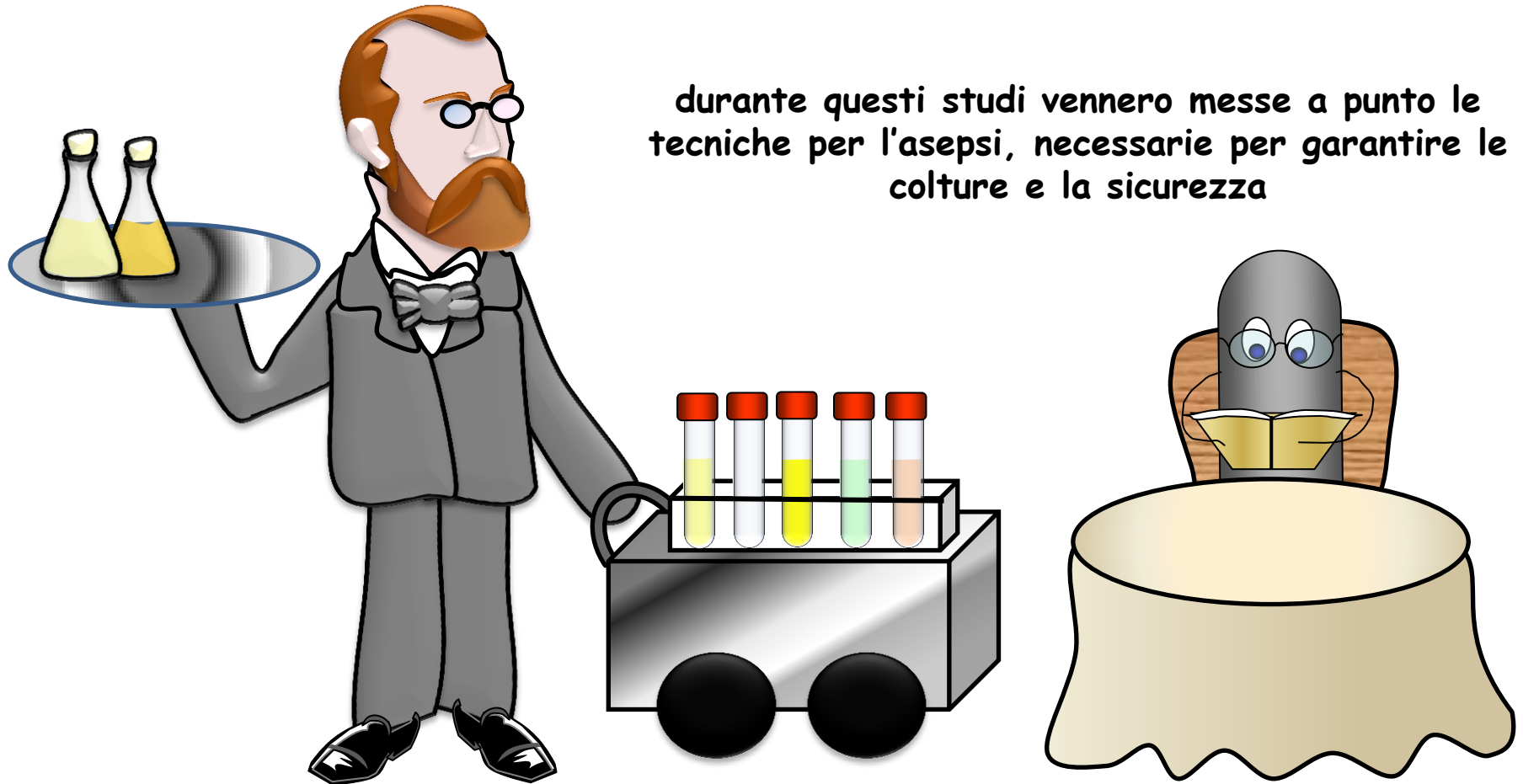
Come ufficiale sanitario aveva accesso alle carcasse del bestiame

I suoi lavori sull'antrace gli valsero riconoscimenti e, nel 1880 ottenne la direzione di un laboratorio, a Berlino, dove occuparsi di altri patogeni importanti

Fino a quel momento l'unico approccio possibile per ottenere colture axeniche era diluire le colture ripetutamente fino ad ottenere una sola specie



Lavorare su colture pure, però era necessario quanto difficile e
il suo laboratorio divenne una sorta di cucina per microbi



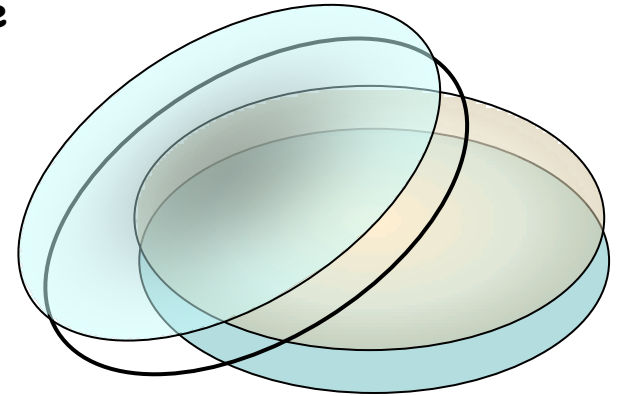
provò le fette di patata, ma non tutti i microbi ci crescevano

provò la gelatina per solidificare i brodi e poter ottenere colture pure

all'inizio la gelatina veniva colata su lastre che si mettevano
sotto campane di vetro

Ogni volta che si cercava di osservare le colture si correva il
serio rischio di contaminarle

poi Julius Richard Petri mise a
punto le prime piastre



la gelatina però aveva molti difetti

liquefa spontaneamente
al disopra dei 28°C

E molte specie batteriche
possono digerirla

**La soluzione a questi problemi
venne dalla cucina orientale**

**Walther Hesse, un collaboratore di Koch, notò
come i budini di sua moglie, Fannie Angelina
Eilshemius restassero solidi anche con il caldo**



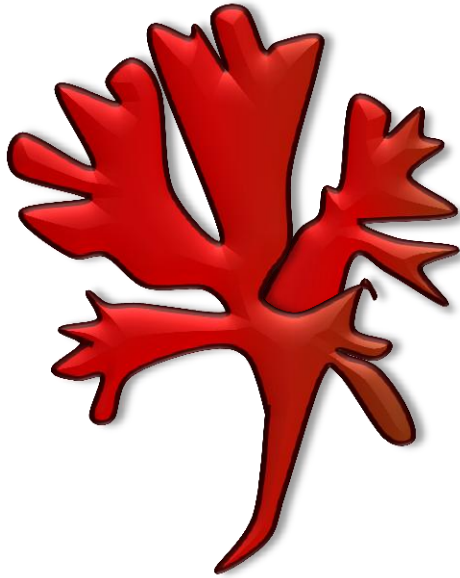
**Il segreto di Fannie
era in un'alga rossa**

**Una sua vicina olandese, vissuta a lungo a Java,
le aveva insegnato l'uso di un solidificante diverso**

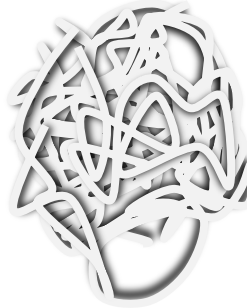


L'AGAR_AGAR

Si estrae da alghe rosse



Gracilaria



Gelidium

È dotato di due caratteristiche particolari

ISTERESI

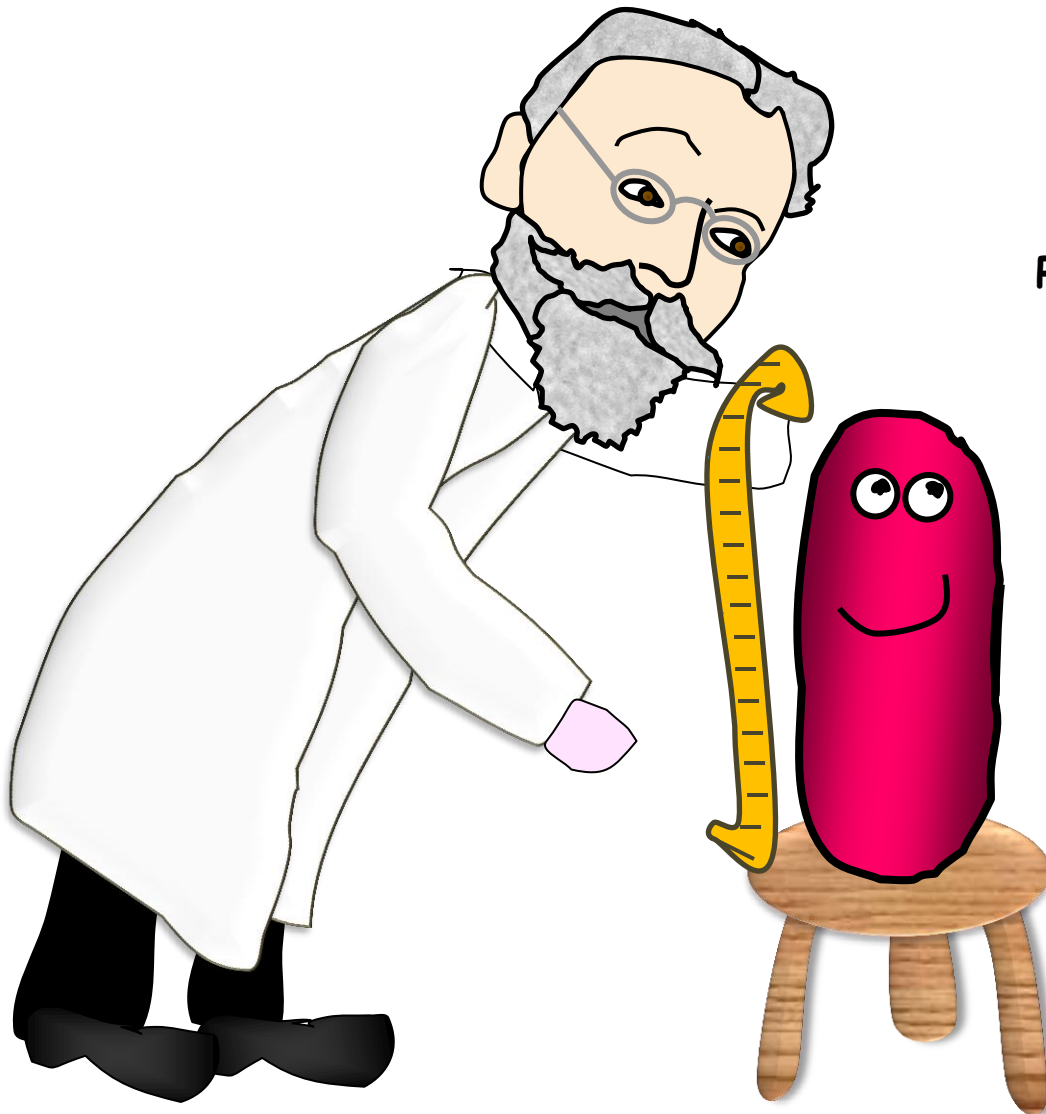
La temperatura di fusione e quella di solidificazione non coincidono

SINERESI

Nel congelamento i cristalli di ghiaccio forzano le molecole di polimero a riunirsi in fibre

dopo il 1882, anno in cui fu
introdotto l'uso dell'agar

Lo studio dei terreni adatti per lo
studio dei batteri divenne fiorente



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

Energia, nutrienti, condizioni di
incubazione ideali

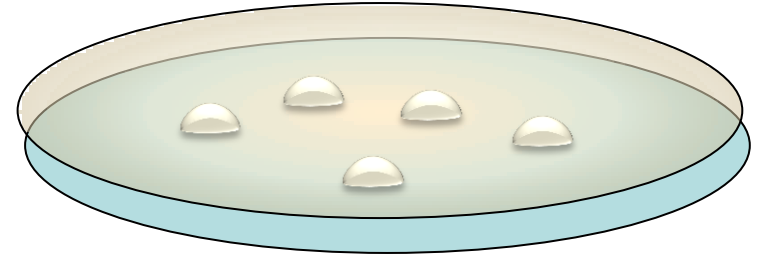
UN TERRENO IDONEO DEVE:

Comprendere tutti i nutrienti necessari alle specie da coltivare

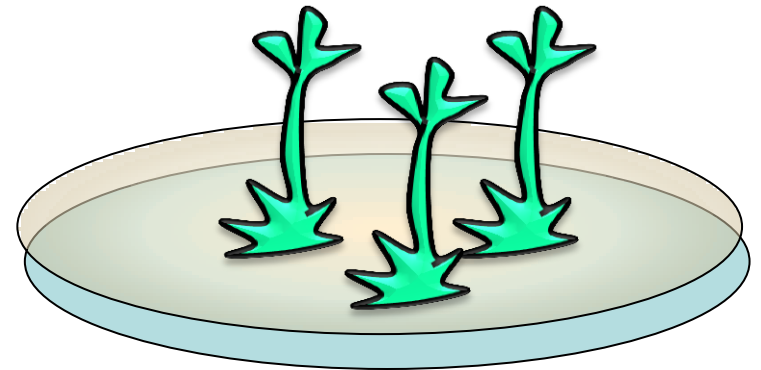
Avere un pH adatto

Un potenziale redox idoneo

Un giusto grado di umidità



Per far crescere i microrganismi che interessano

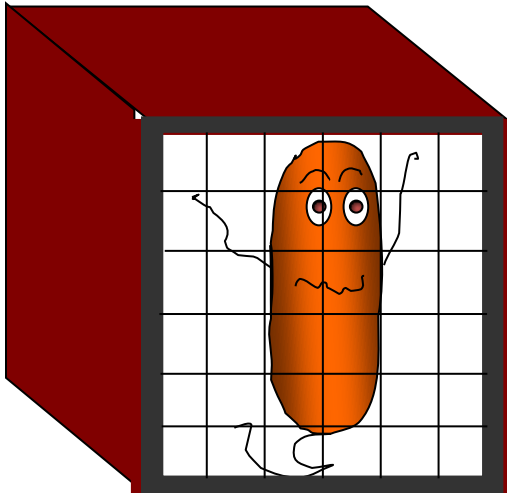


Essere sterile

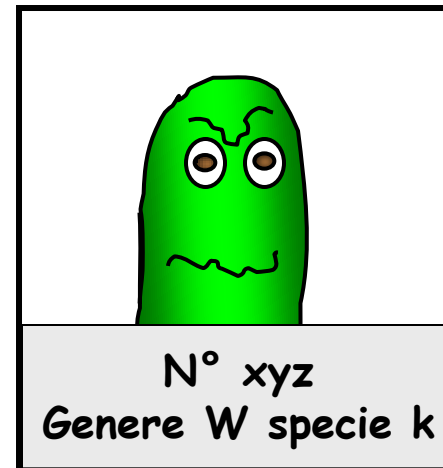
Per non farne crescere altri

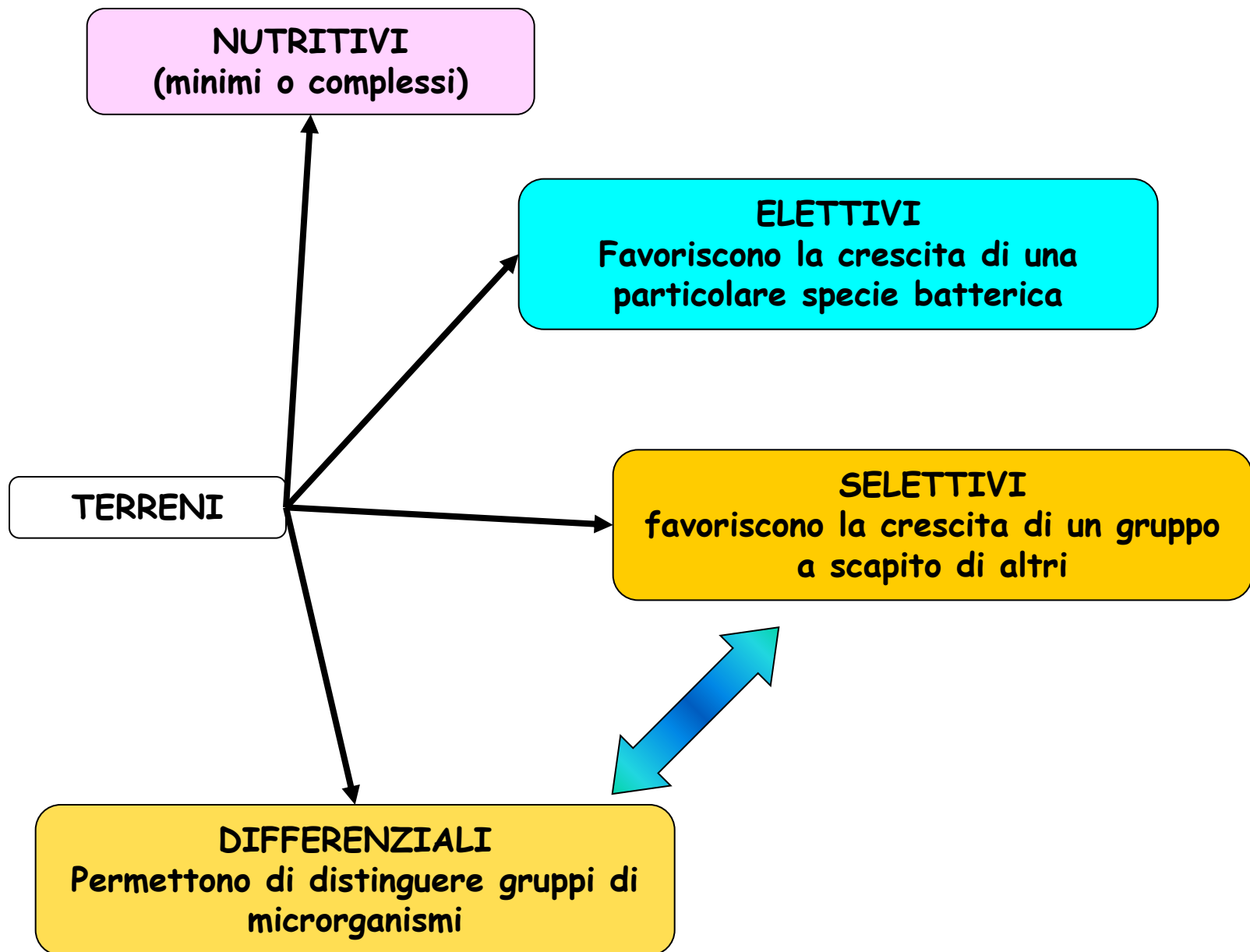
IDENTIFICAZIONE PER CARATTERISTICHE CULTURALI

ISOLAMENTO



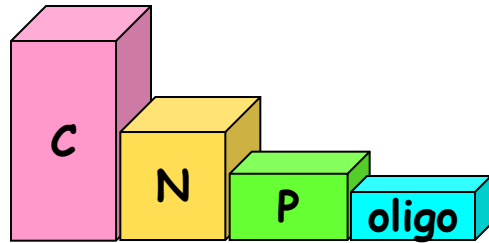
CARATTERIZZAZIONE





TERRENI MINIMI

Chimicamente definiti



Utili per studi di fisiologia batterica

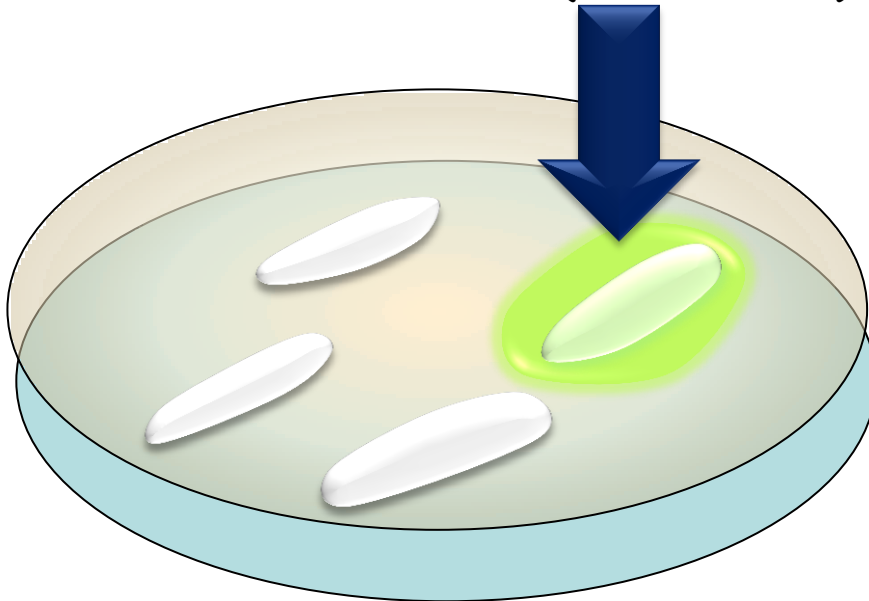
Es: capacità metaboliche

Utili per studi di genetica microbica

Es: selezione di mutanti

Nei terreni sintetici è possibile creare condizioni idonee all'espressione di particolari caratteristiche

Basso tenore di ferro →
Siderofori fluorescenti (*Pseudomonas*)



I TERRENI COMPLESSI a base di peptoni, estratti di carne o di lievito

ottenere biomassa

conte batteriche

Si usano per far crescere la
maggior parte dei microrganismi

Osservare caratteristiche morfologiche



Mobilità particolari...
(sciamamenti, Proteus)



Pigmenti... Janthinobacterium
lividum: violaceina

Es. TSA (a base di idrolisato triptico di Soia)

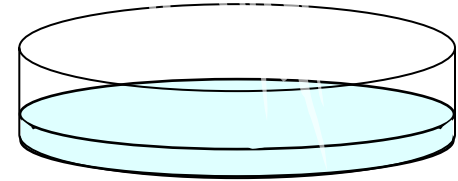
Es. LB (Lysogeny Broth) relativamente povero

SUPPLEMENTI

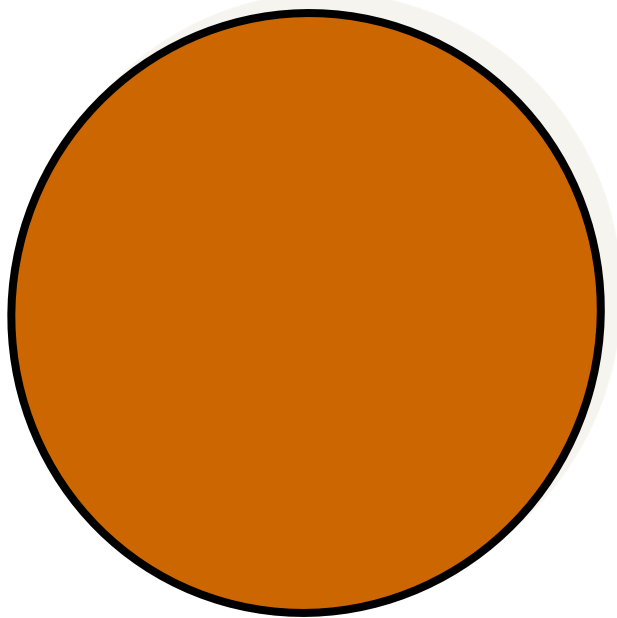
alcuni microrganismi hanno richieste particolari

(fattori di accrescimento)

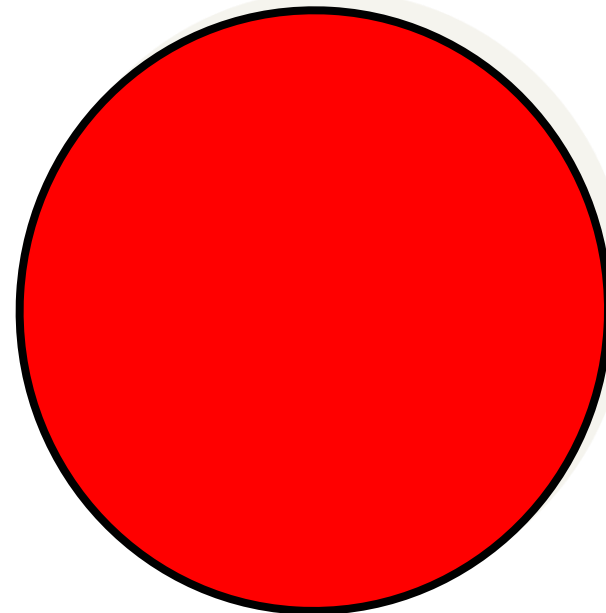
se il terreno non contiene il composto richiesto deve essere supplementato



Agar-cioccolato
(sangue cotto)



Es. Agar-sangue
(cercare immagini su emolisi)

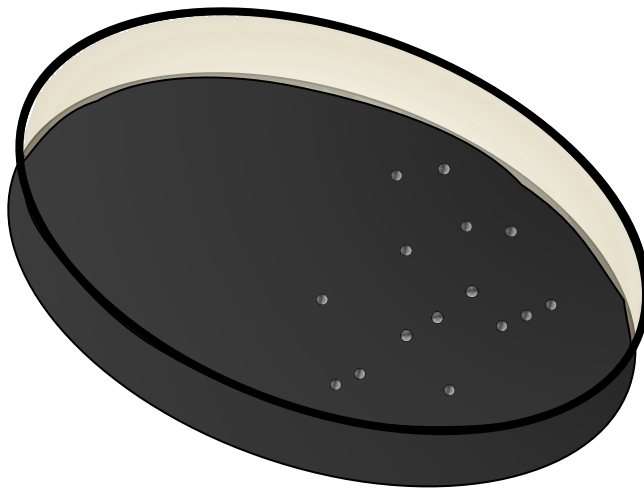
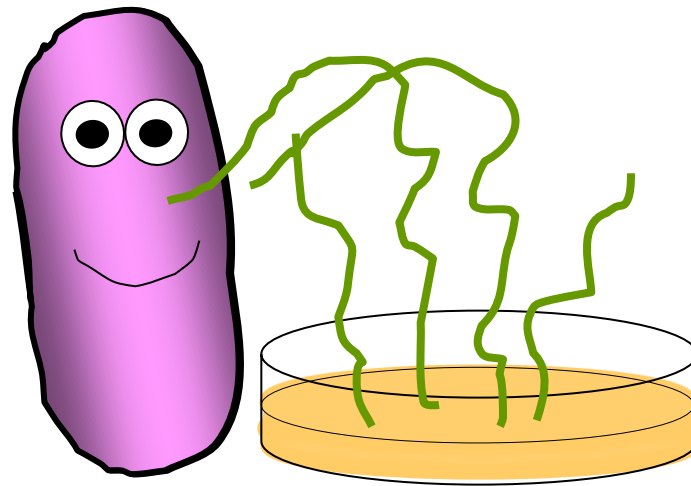


AGENTI DETOSSICANTI

alcuni microrganismi sono molto delicati

Componenti normali di terreni di coltura li intossicano

È necessario aggiungere al terreno componenti protettivi



Come, per
esempio,
carbone
vegetale
Es. Legionella
Bordetella

Un terreno **SELETTIVO** ostacola la crescita di microrganismi diversi da quelli che si vogliono ottenere

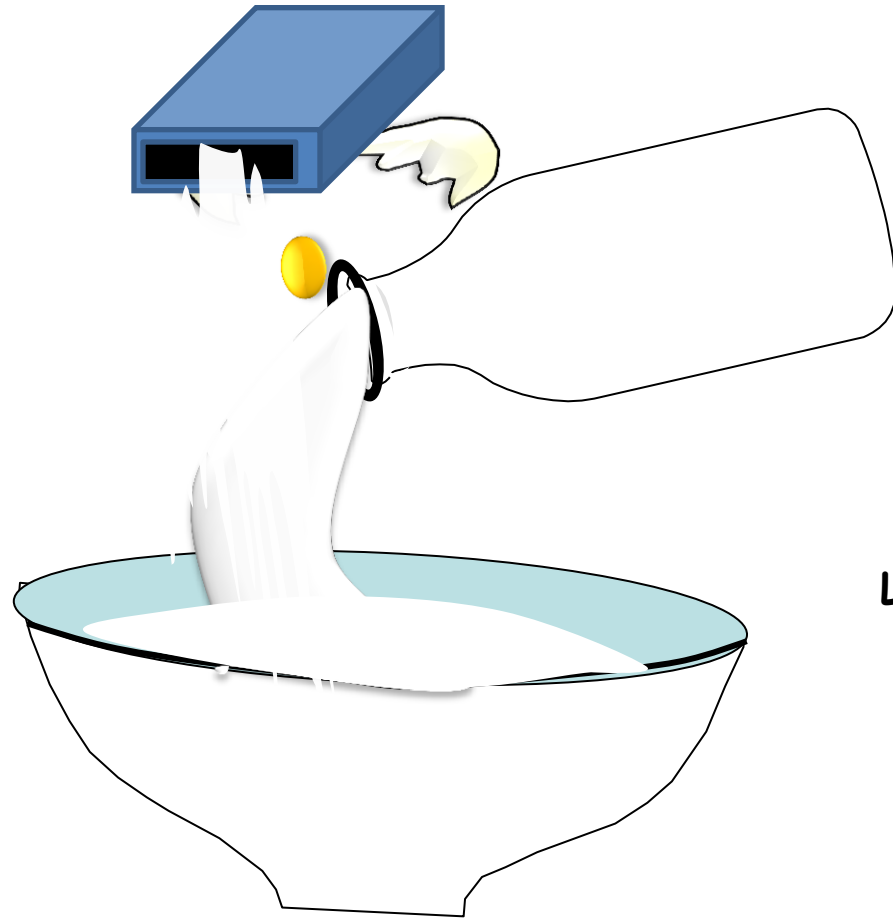
M. tuberculosis può essere coltivato su terreni a base di

latte uova

fecola di patate...

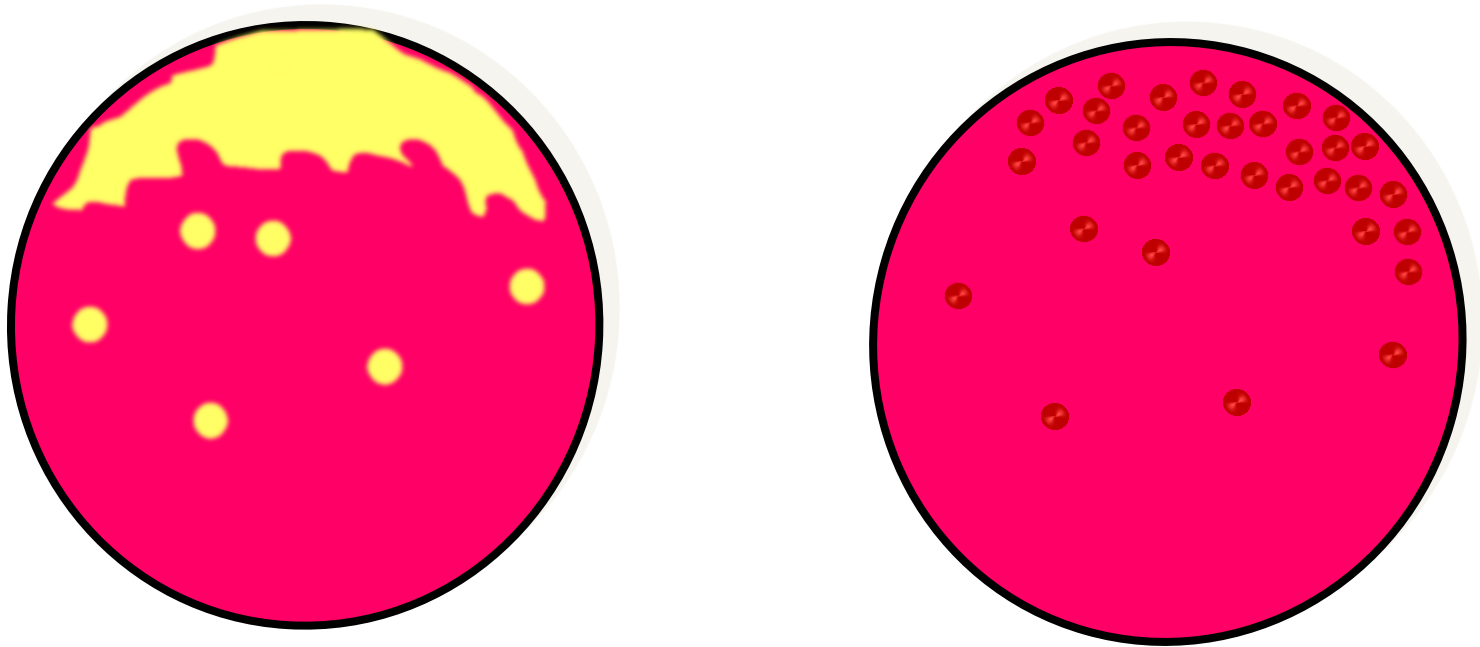
La sua crescita molto lenta rende necessario aggiungere al terreno un antifungino

Verde di malachite



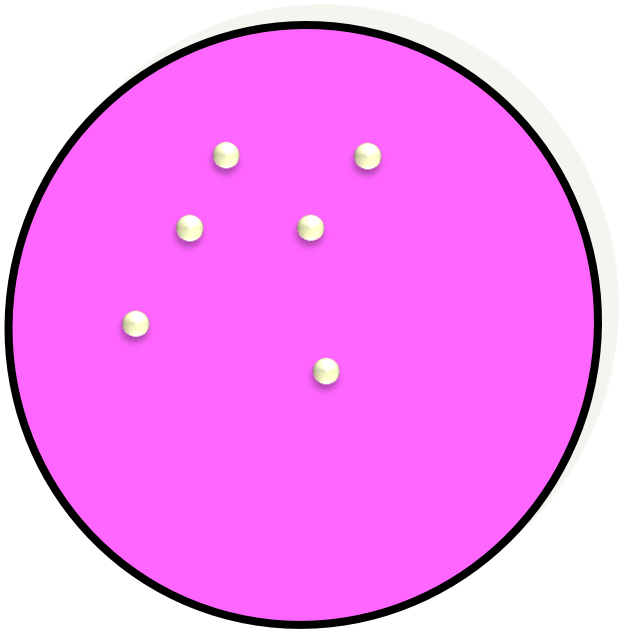
Un terreno selettivo può essere reso anche DIFFERENZIALE, con l'aggiunta di uno o più test biochimici, es. MSA:

MANNITOLO-SALE, RICERCA DI STAFILOCOCCI

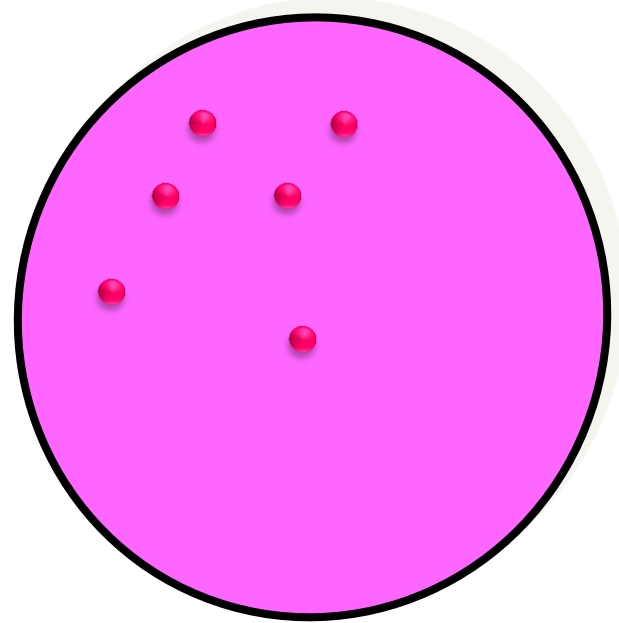


La percentuale di sale (7,5%) ostacola la crescita di altri batteri; il mannitolo è fermentato da *S. aureus* e non da altre specie di stafilococco
L'INDICATORE è ROSSO FENOLO (GIALLO IN CAMPO ACIDO)

**Un esempio di terreno selettivo-differenziale:
McConkey per enterobatteri**



Es. Salmonella, lattosio -



Es. E. coli, lattosio +

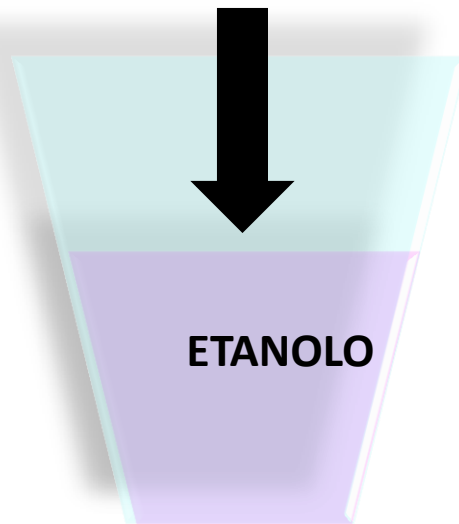
**Sali biliari (selezionano i batteri capaci di sopravvivere nell'intestino)
cristal violetto (inibisce i batteri Gram-positivi)
zucchero fermentabile (agente differenziale): lattosio
Indicatore: Rosso neutro (rosso violaceo in campo acido)**

Semina per spatolamento

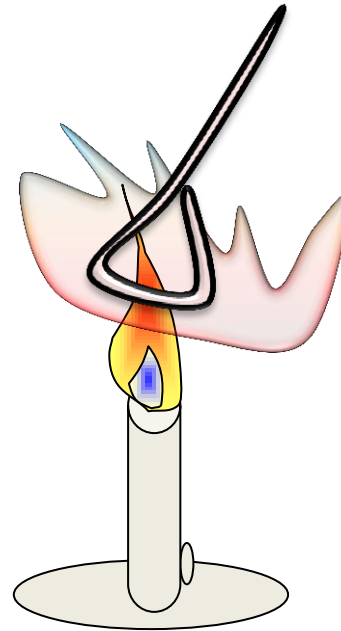
L'inoculo sulla piastra



"Zappetta"
nell'etanolo



"flambare"

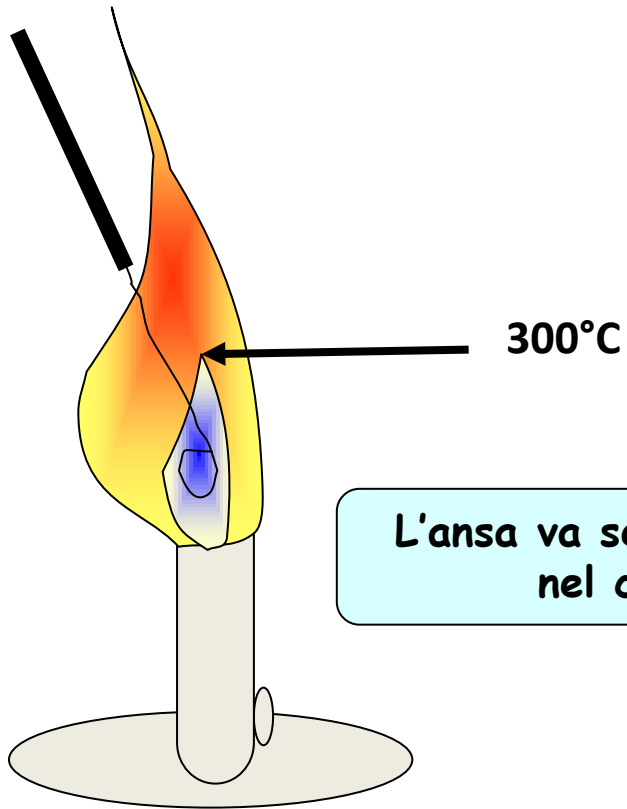


Lasciar freddare e distribuire
l'inoculo sulla piastra

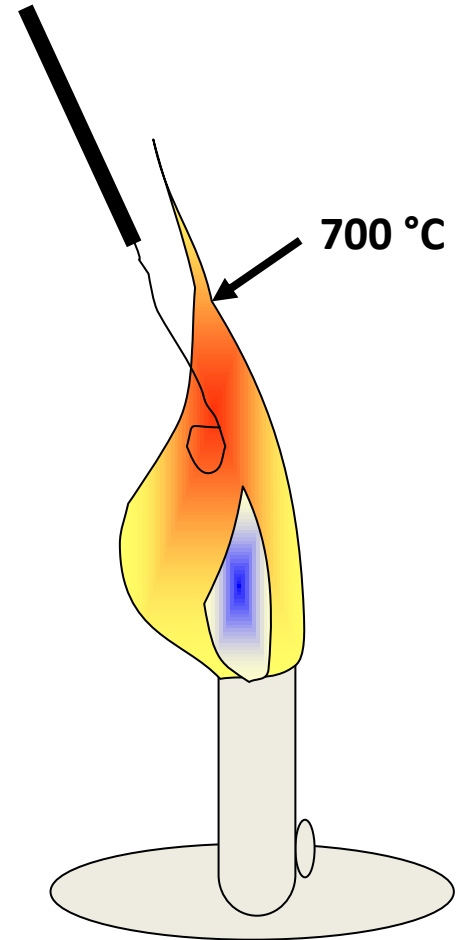


Dopo aver inoculato sterilizzare la zappetta come prima

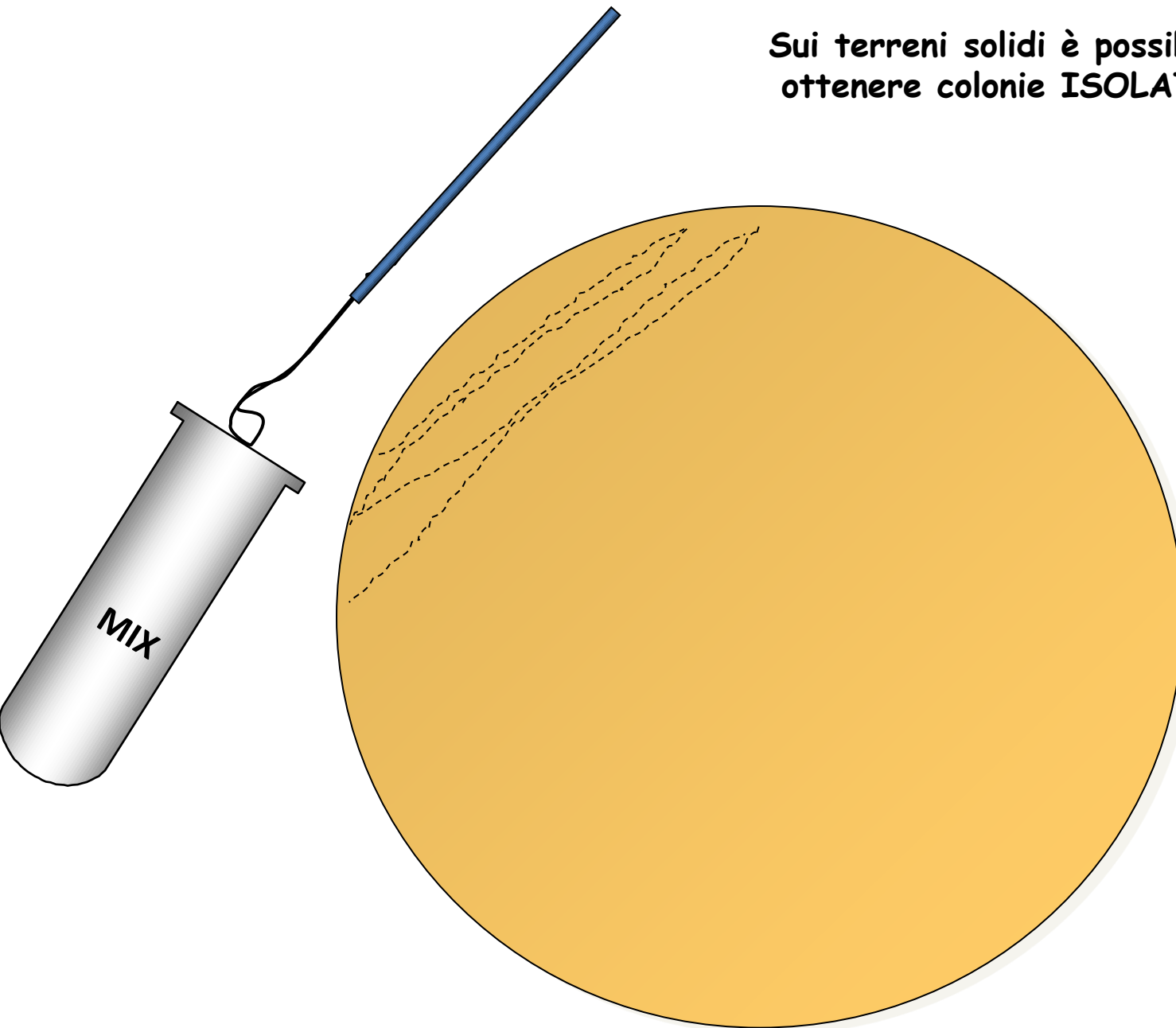
fiamma diretta: l'uso del "Becco Bunsen" per sterilizzare
la vetreria e le anse strumentazione



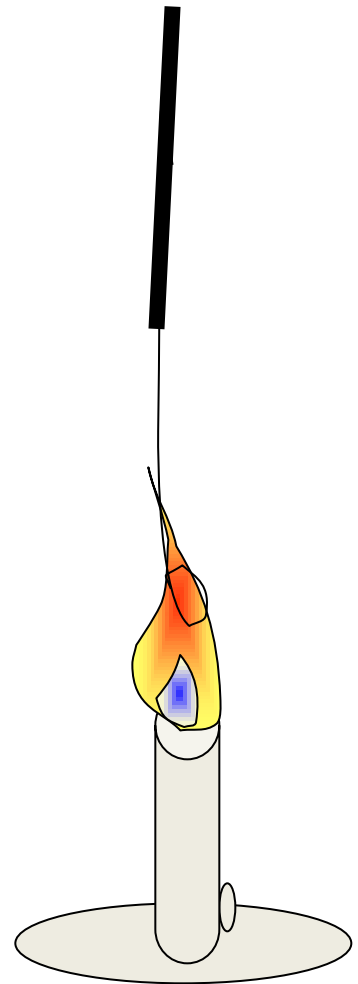
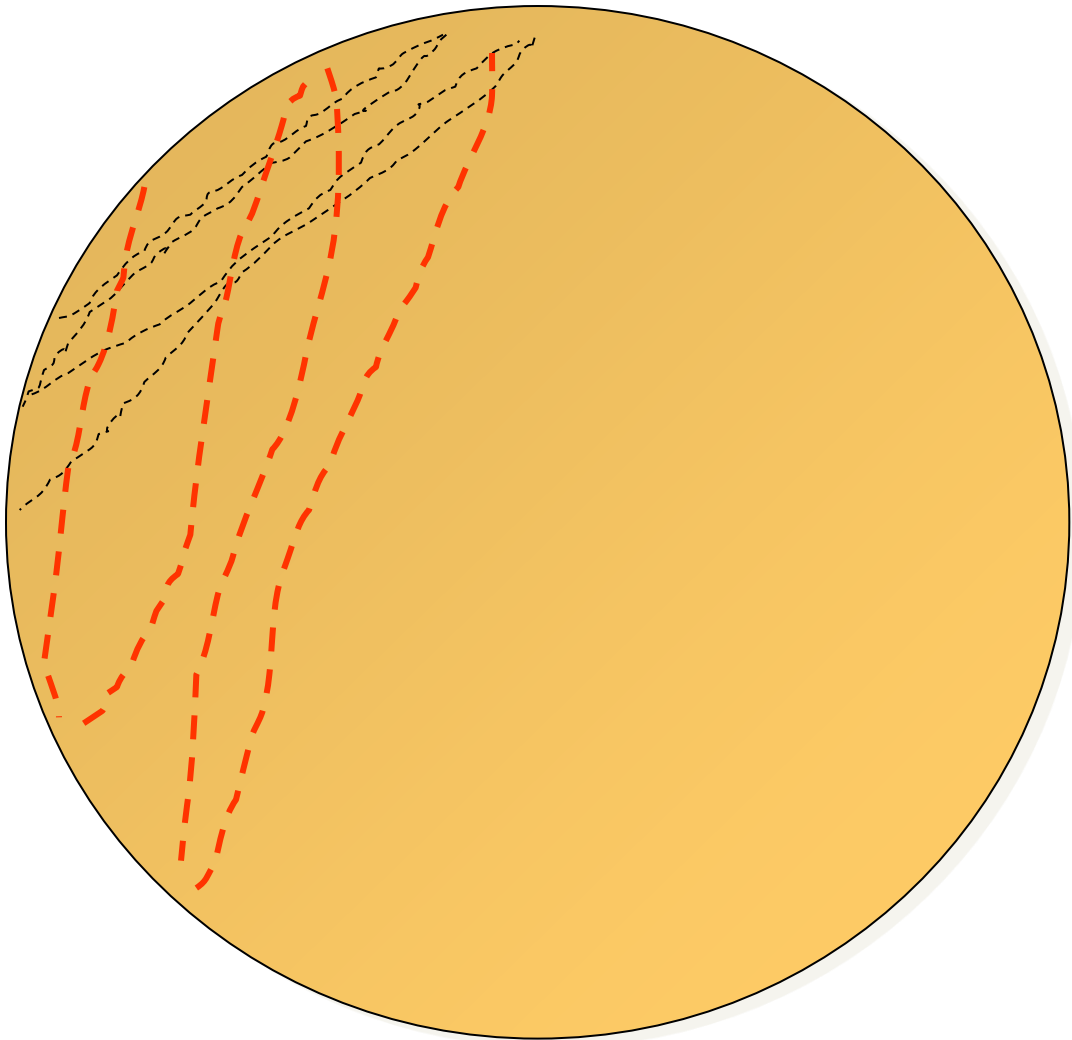
L'ansa va sempre posta prima
nel cono freddo



Sui terreni solidi è possibile
ottenere colonie ISOLATE



ISOLAMENTO-2



ISOLAMENTO-3

