

I VERMETTI !!!!!

ANALISI QUALITATIVA:

Per identificare un microorganismo si eseguono prima le **prove presuntive** e successivamente si eseguono le **prove biochimiche**.

Viene eseguito lo studio degli **ENTEROBATTERI**:

sono una famiglia di batteri che vivono nell'intestino e sono caratterizzati per:

Forma bastoncellare (e non sferica: cocchi)

Aerobi e Anaerobi

Gram negativi (parametro relativo alla capacità di trattenere un colorante: colorazione di Gram)

I **coliformi** sono una "sottofamiglia" degli enterobatteri (come caratteristica principale fermentano il lattosio producendo gas e acidi)

prove presuntive:

Servono per selezionare un ceppo batterico inibendo (non facendo crescere) altri tipi di microorganismi. Con queste prove non si è sicuri dell'identità del batterio ma questa verrà confermata successivamente con le prove biochimiche.

Si preparano due terreni e si studia lo sviluppo dei microorganismi (prelevati dal campione da analizzare):

AGAR MC CONKEY:

È un terreno selettivo per l'identificazione degli enterobatteri. Contiene Sali biliari e cristalvioletto che inibiscono la crescita della maggior parte dei gram+ (si sviluppano solo i gram-)

È un terreno discriminativo in quanto contiene Lattosio e Rosso Neutro così da discriminare gli enterobatteri patogeni (ossia quelli che non fermentano il lattosio)

In poche parole:

- **Gram+** : NON si sviluppano formando colonie (sono inibiti): muoiono.
- **Enterobatteri** (Gram-) : formano colonie e si possono distinguere quelli:
 - **fermentanti lattosio** (i coliformi): quando fermentano il lattosio, l'indicatore (rosso neutro) fa cambiare colore alle colonie (sviluppano acidi) e diventano quindi rosso-viola o rosso-mattone.
 - **NON fermentanti lattosio**: le colonie si formano ma non hanno una colorazione particolare.

(non sono molto sicuro di questa divisione: devo chiedere)

Gram- (enterobatteri)	Coliformi (fermentano il lattosio)	Escherichia coli	Si Colonie	Rosso- viola	Con alone di ppt
		Enterobacter aerogenus		Rosso- mattone	Opache (no alone)
	Non fermentanti il lattosio	Salmonella		incolori	sciamatura (si muovono)
		Proteus			
Gram+	No colonie: sono inibiti				

LEVINE:

è usato per le prove presuntive di ricerca dei coliformi (enterobatteri che fermentano il lattosio):

- Inibisce la crescita dei gram+ (contiene Eosina)
- Differenzia i gram- a seconda che fermentino o no il lattosio:

		Microorganismo	Colore colonia
Gram - (enterobatteri)	Si colonie	Coliformi (fermentano il lattosio)	Escherichia coli Viola, centro nero, riflessi verde metallico
		Enterobacter aerogenus Rosa, senza riflessi	
	Non fermentanti il lattosio	Colonie rosa	
Gram+	No colonie: inibiti (dall'eosina)		

Prove biochimiche:

Vengono fatte dopo l'analisi presuntiva (che ci fa capire quale microorganismo cercare) e servono dunque per avere la conferma del tipo di microorganismo si ha.

Viene dunque identificato il microorganismo per le sue proprietà metaboliche e fenotipiche (parlando potabile: faccio delle prove che mettano in evidenza le caratteristiche del batterio; ad esempio l'Escherichia coli fermenta il glucosio e il maltosio ma non il saccarosio: vado a vedere se il microorganismo che ho fermenta davvero solo quello)

Si eseguono 5 prove:

-O/F: 2 provette piccole (16x100) con 5 ml di terreno ed in una aggiungo uno strato di olio di vasellina

è un terreno particolare al quale si aggiunge l'1% di glucosio: è una **prova di FERMENTAZIONE o OSSIDAZIONE del GLUCOSIO**: si capisce dunque se il microorganismo fermenta (può avvenire con o senza ossigeno e produce acidi forti) oppure se ossida (per l'ossidazione il microorganismo ha bisogno dell'ossigeno) il glucosio.

Si preparano **2 provette** di questo terreno solido e si semina per infissione con ago. Una viene isolata dall'ossigeno con uno strato di olio di vasellina.

Contiene un indicatore che è:

- GIALLO: in ambiente acido: il microorganismo ha fermentato o ossidato lo zucchero (glucosio)
- VERDE: ambiente neutro: non è successo nulla

I risultati possibili sono:

microorganismo FERMENTANTE il gluc.	Provetta 1	GIALLA	Il microorganismo fermenta in tutte e 2: non ha bisogno di ossigeno. In tutte e 2 quindi viene prodotto acido.
	Provetta coperta dalla vasellina	GIALLA	
microorganismo che OSSIDA il gluc.	Provetta 1	GIALLA	Il microorganismo ossida il glucosio solo in presenza di aria e quindi in quella senza ossigeno non fa nulla e non produce acidi (rimane verde)
	Provetta coperta dalla vasellina	VERDE	
microorganismo che NON fermenta e NON ossida il glucosio	Provetta 1	VERDE	Non ossida e non fermenta: tutte e 2 le provette sono negative in quanto non produce acidi e l'ambiente rimane neutro
	Provetta coperta dalla vasellina	VERDE	

- **BBLVB** (Brodo lattosato Bile verde Brillante) + **campanella di Durhan**

(in una provetta classica:16x160 con 10 ml di brodo) contiene già del LATTOSIO.

È un brodo SELETTIVO per i coliformi: inibisce la crescita dei Gram+

Se vi sono coliformi si forma un intorbidimento e vi è la **formazione di gas: la campanella di Durhan si riempie di gas.**

Agar rosso fenolo:

è un terreno nutritivo solidificato in provette classiche (16x160) a becco di clarino (solidificato inclinato). Si semina per infissione e strisciando sulla superficie curva del becco di clarino.

Contiene come INDICATORE in rosso fenolo che serve per capire se il microorganismo presente fermenta lo zucchero che si aggiunge producendo acidi che fanno virare l'indicatore.

Vengono eseguite 3 diverse prove aggiungendo l'1% di uno zucchero diverso in ognuna:

1°: GLUCOSIO

2°:SACCAROSIO

3°: MALTOSIO

Dopo incubazione:

GIALLA	POSITIVO: ambiente ACIDO	Se il microorganismo fermenta lo zucchero si forma dell'acido che fa virare l'indicatore
ARANCIO	NEGATIVO: ambiente NEUTRO	Se il microorganismo NON fermenta lo zucchero l'ambiente rimane neutro perché non succede nulla o
VIOLA	NEGATIVO: ambiente BASICO	basico (?? Non so esattamente perché ma cmq non fermenta e fa qualcos'altro??)