

# **Corso di Microbiologia Generale**

**a.a. 2021-2022**

## **CURVA DI CRESCITA**

**Prof.ssa Annalisa Serio UNITE**

**Materiale didattico**

**Riproduzione vietata senza espressa autorizzazione del docente**

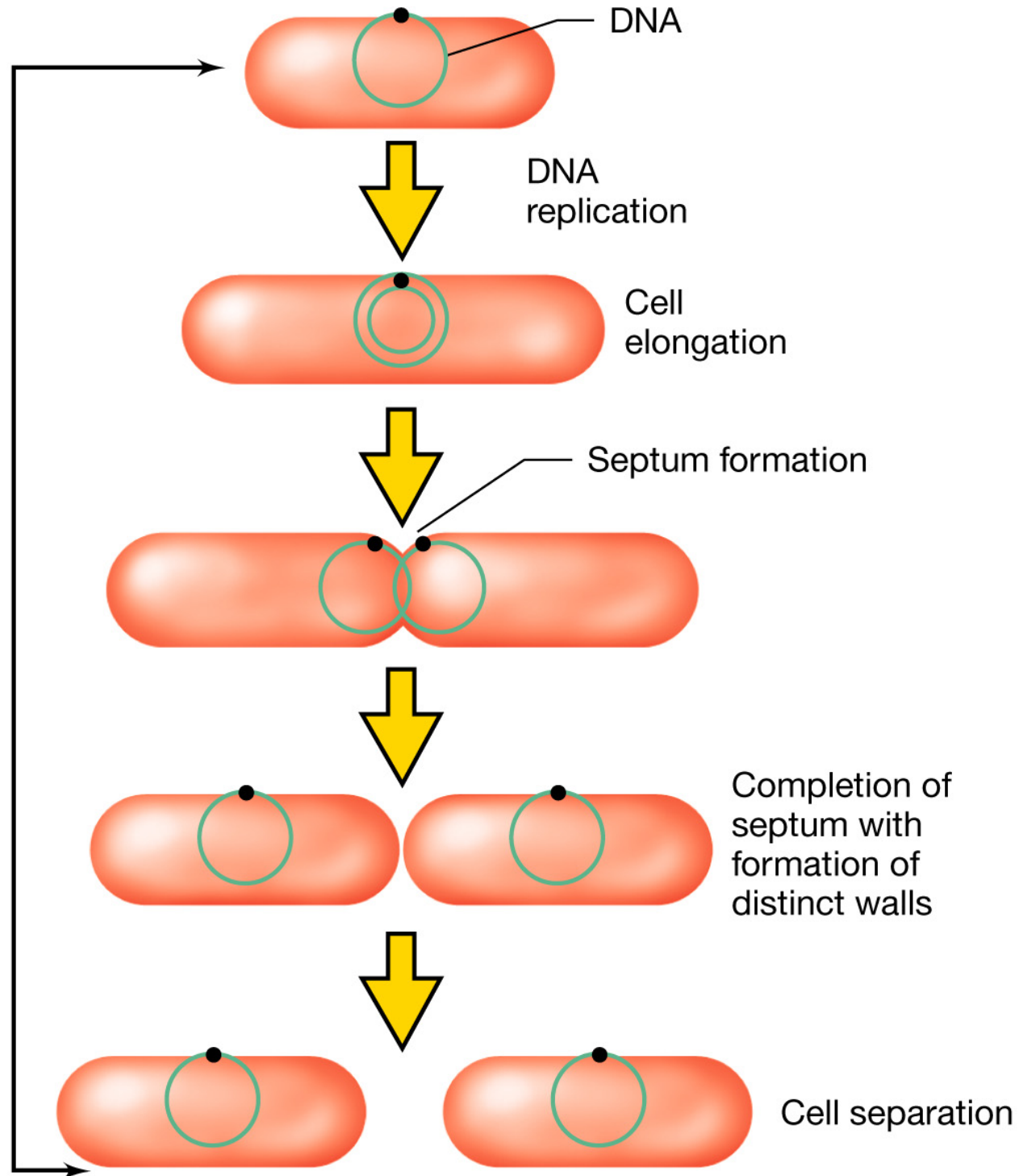
# LA RIPRODUZIONE DEI BATTERI

Nella maggior parte dei casi:

**SCISSIONE BINARIA (processo asessuale)**

**\*FASI:** estensione centripeta della membrana cellulare e formazione del setto trasverso, duplicazione del cromosoma, completamento del setto trasverso e separazione delle due metà del materiale cromosomico, restringimento anulare centrale della parete cellulare, formazione della parete trasversa, separazione delle due cellule figlie.

One generation



# LA RIPRODUZIONE DEI BATTERI

Alcuni batteri (es. *Hyphomicrobium*), analogamente ai lieviti:

## GEMMAZIONE

\***FASI:** protuberanza alla superficie della cellula-madre, aumento di volume, distacco.

Actinomiceti (Gram +):

## SEGMENTAZIONE

\***FASI:** formazione di lunghi filamenti, segmentazione.

# **I DATI MATEMATICI DELLA CRESCITA MICROBICA**

**Durante la fase esponenziale ogni microrganismo si divide ad intervalli costanti.**

**Tempo di generazione (o tempo di duplicazione): tempo necessario affinché, in fase esponenziale, la popolazione microbica raddoppi.**

# LA CRESCITA ESPONENZIALE

$N_0$  = numero della popolazione iniziale

$N_t$  = popolazione al tempo  $t$

$n$  = numero di generazioni al tempo  $t$

Poiché ogni cellula si divide in due cellule figlie:

$$N_t = N_0 \times 2^n$$

# LA CRESCITA ESPONENZIALE

$$N_t = N_0 \times 2^n ; \quad \log N_t = \log (N_0 \times 2^n) ;$$

$$\log N_t = \log N_0 + \log 2^n ; \quad \log N_t = \log N_0 + n \cdot \log 2;$$

$$n = \frac{\log N_t - \log N_0}{\log 2} = \frac{\log N_t - \log N_0}{0,301}$$

# LA CRESCITA ESPONENZIALE

**Tasso di crescita k in una coltura chiusa (coltura in batch):**

$$k = \frac{n}{t} = \frac{\log N_t - \log N_0}{0,301 t}$$

**(numero delle generazioni per unità di tempo)**



# LA CRESCITA ESPONENZIALE

**Tempo medio di generazione o di duplicazione (g):**

**Quando la popolazione raddoppia (t = g):  $N_t = 2 N_0$  ,**

$$k = \frac{\log (2 N_0) - \log N_0}{0,301 g} = \frac{\log 2 + \log N_0 - \log N_0}{0,301 g} = \frac{1}{g}$$

$$g = \frac{1}{k}$$

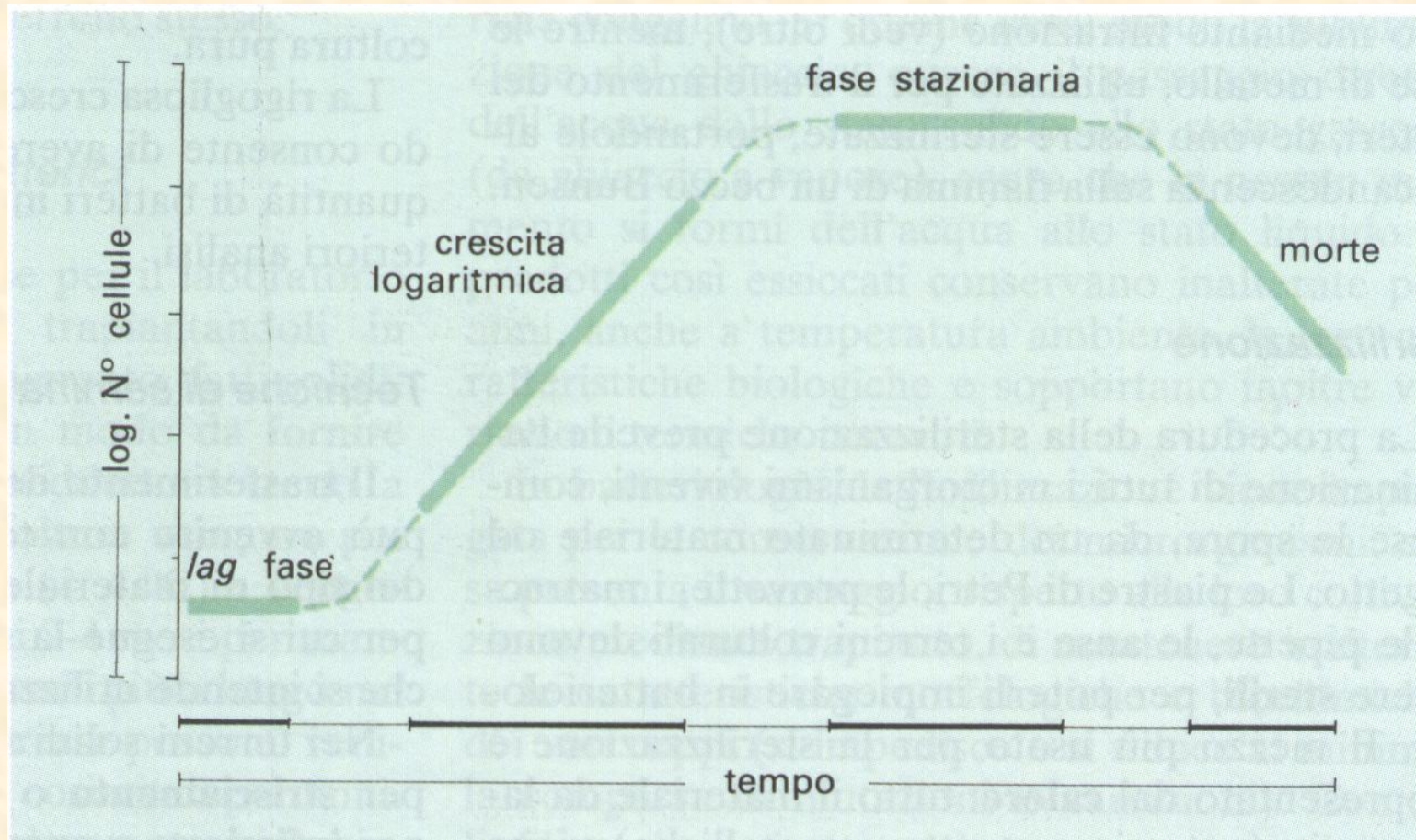
# LA CRESCITA ESPONENZIALE

**Esempio:** una popolazione batterica aumenta da  $10^3$  a  $10^9$  cellule in 10 ore. Calcolare il tempo medio di generazione:

$$k = \frac{\log 10^9 - \log 10^3}{0,301 (10 \text{ ore})} = \frac{9 - 3}{3,01 \text{ ore}} \cong 2 \text{ generazioni/ora}$$

$$g = \frac{1}{k} = \frac{1}{2 \text{ generazioni/ora}} = \underline{\underline{0,5 \text{ ore /generazione}}}$$

# La curva di crescita dei microrganismi in un terreno liquido



## **Le fasi della curva di crescita**

**① LAG FASE: latenza** → il microrganismo organizza la sintesi di enzimi di induzione.

**La durata dipende da:**

- a) tempo di generazione del microrganismo;**
- b) rapporto volume terreno/volume inoculum;**
- c) età della coltura da cui proviene l'inoculum;**
- d) inoculum costituito da spore;**
- e) cambio di terreno o depauperamento del terreno (“crescita diauxica”).**

## **Le fasi della curva di crescita**

**② LOG FASE** o fase logaritmica → la moltiplicazione cellulare avviene con progressione geometrica (tasso costante). In questa fase il tempo di generazione è minimo.

**La durata dipende da:**

- a) tempo di generazione del microrganismo;**
- b) rapporto volume terreno/volume inoculum;**
- c) temperatura;**
- d) caratteristiche del terreno.**

## **Le fasi della curva di crescita**

**③ FASE STAZIONARIA** → equilibrio tra numero di cellule che muoiono e numero di cellule che si moltiplicano.

**Il rallentamento della crescita microbica dipende da:**

- a) esaurimento dei nutrienti;**
- b) accumulo di metaboliti tossici;**
- c) riduzione dello spazio minimo vitale;**
- d) modificazioni delle caratteristiche fisiche del terreno.**

## **Le fasi della curva di crescita**

**④ FASE DI MORTE** → se il batterio non può trasformarsi in spora, è inattivato (“muore”).

**Inattivazione = incapacità di riprodursi quando il batterio è trasferito in un ambiente permissivo.**

**Come la crescita, avviene con progressione logaritmica.**

**In alcuni batteri: enzimi autolitici.**

# **METODI PER LA MISURAZIONE DELLA CRESCITA MICROBICA**

- 1. Metodi basati sulla determinazione della massa totale della popolazione microbica**
- 2. Metodi basati sulla determinazione del numero di cellule**



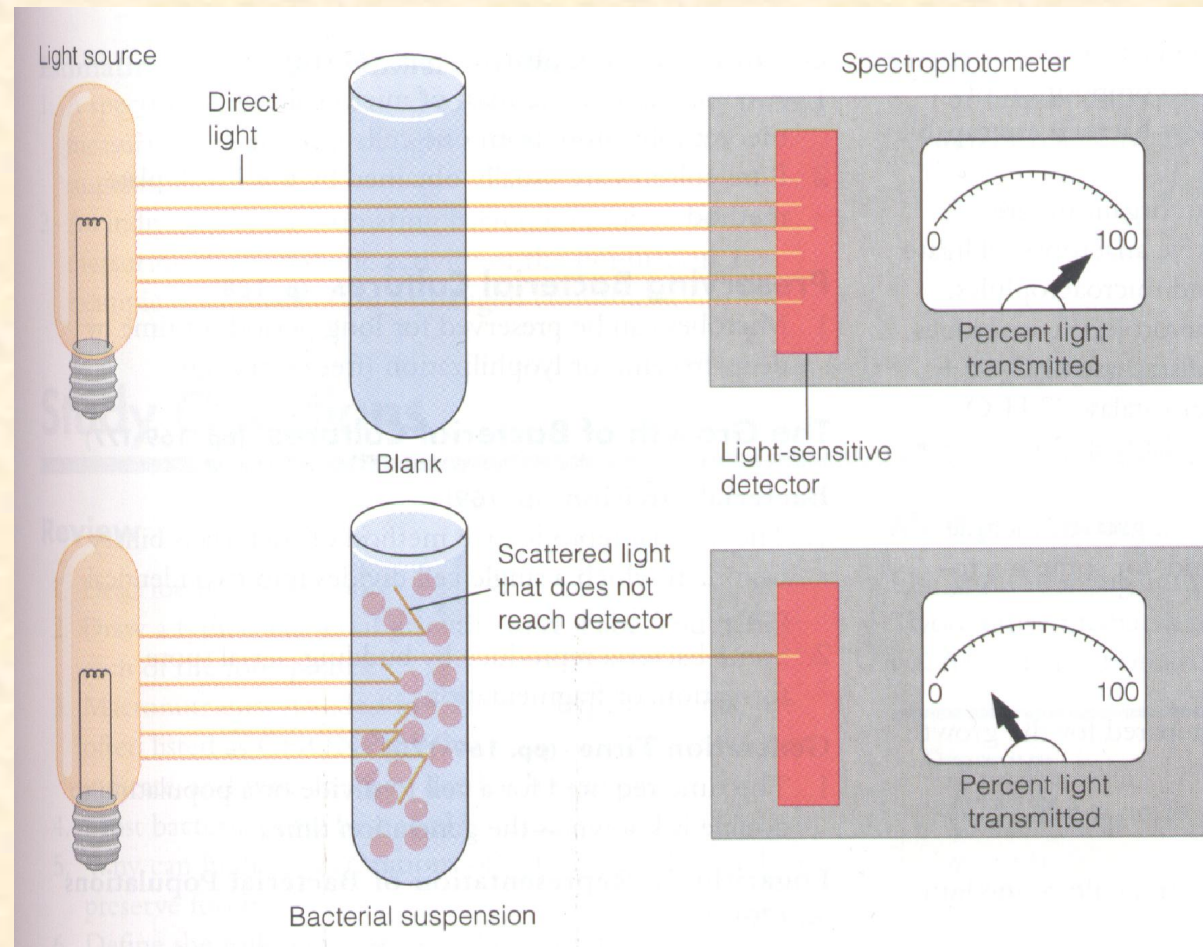
**METODI BASATI SULLA  
DETERMINAZIONE DELLA  
MASSA TOTALE DELLA  
POPOLAZIONE MICROBICA**

# **MISURAZIONE DELLA MASSA CELLULARE**

- ① Misurazione del peso secco microbico (muffe)**
- ② Determinazione di un costituente cellulare  
(es. proteine, clorofilla)**
- ③ Metodi turbidimetrici**

# Metodi turbidimetrici: MISURAZIONE DELLA DENSITA' OTTICA

Le cellule sono oggetti di una certa dimensione, quindi riflettono bene la luce. Questa caratteristica può essere utilizzata per stimare in modo rapido la massa cellulare (che è proporzionale al numero di cellule).



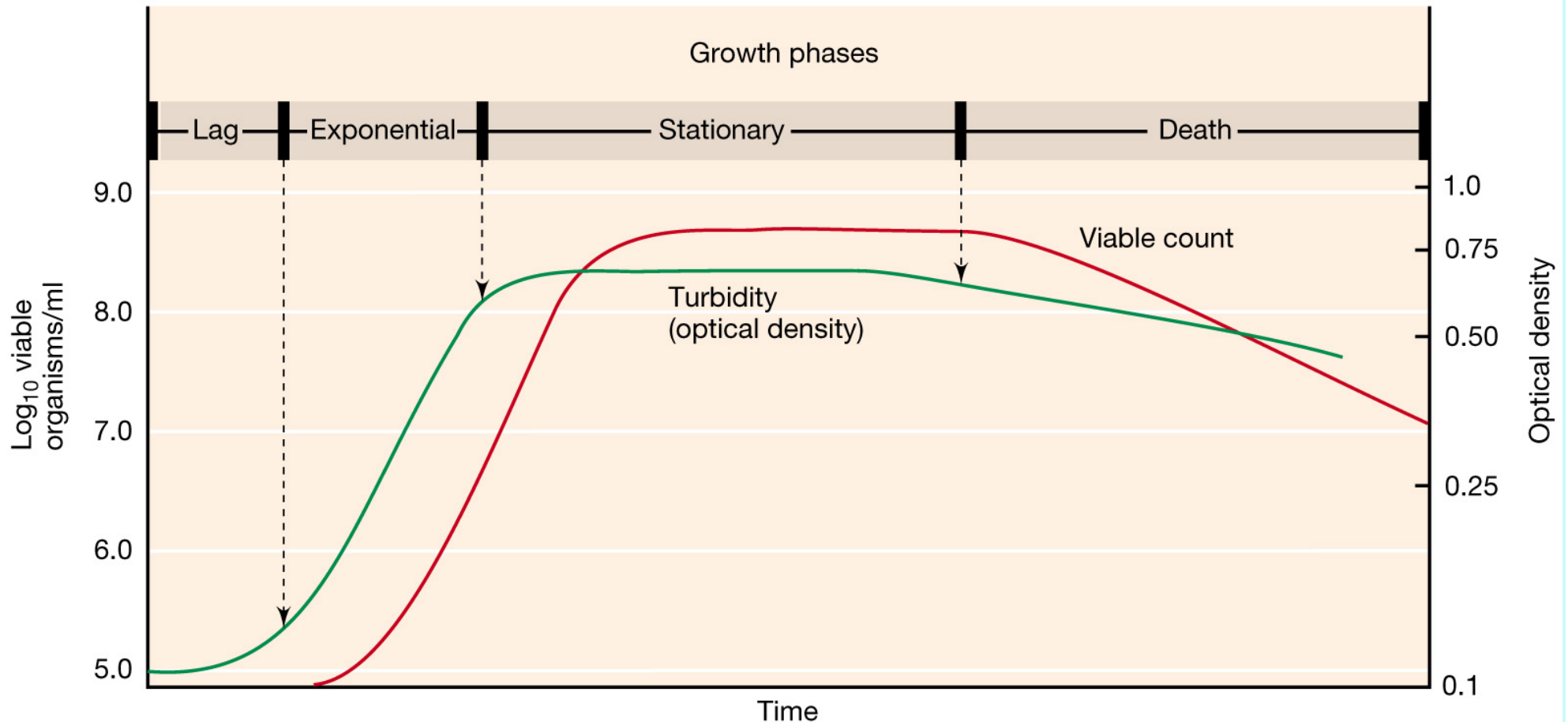
# **MISURAZIONE DELLA DENSITA' OTTICA**

**Determinazione fotoelettrica della diminuzione della trasmissione (turbidometria)**

**Misurazione della densità ottica DO ad una lunghezza d'onda superiore a 490 nm (spettrofotometro)**

**La DO è direttamente proporzionale alla densità batterica tra 0,01 e 0,5 mg/ml (da  $10^7$  a  $10^9$  cellule/ml)**

Metodo valido per monitorare l'aumento del numero di cellule in una coltura in crescita.



N.B. microrganismi diversi hanno dimensioni e/o forme diverse quindi necessitano di una retta di taratura per correlare la D.O. al reale numero di cellule.

# **APPLICAZIONI DELLA TURBIDOMETRIA**

**SCALA DI MCFARLAND:** allestimento di inoculi batterici con carica predeterminata.

**PRECAUZIONI:** 1. Omogeneità della sospensione madre; 2. Lettura sia visiva sia spettrofotometrica; 3. Attenzione alle colonie pigmentate.



**Da Hardy Diagnostics**



**Da slideplayer.com**