

### 9.3. ESAME MICROSCOPICO A FRESCO

Per esame microscopico a fresco si intende l'osservazione microscopica dei microrganismi vivi, tal quali e non colorati.

Il preparato può essere allestito su vetrino semplice oppure su vetrino di Koch.

#### Materiale occorrente

coltura di lavoro del microrganismo in esame in BTS  
 1 vetrino portaoggetto semplice con vetrino coprioggetto  
 1 vetrino portaoggetto a goccia pendente (di Koch) con vetrino coprioggetto  
 1 pinza di legno o di metallo  
 1 ansa di metallo  
 bunsen  
 microscopio

#### Allestimento del vetrino semplice

- ▶ Aprire provetta contenente la brodocoltura in esame e flamarla velocemente.
- ▶ Sterilizzare l'ansa di metallo per arroventamento sulla fiamma del bunsen, farla raffreddare per 20-30 secondi all'aria, quindi prelevare un'ansata della brodocoltura e depositarla, strisciando l'ansa, sulla parte centrale del vetrino semplice portaoggetto.
- ▶ Riflambare prima di richiuderla la provetta con la coltura di lavoro e il suo tappo.
- ▶ Tenere il vetrino coprioggetto in mano e depositarlo in modo esattamente parallelo sulla goccia di preparato depositata sul vetrino portaoggetto; in alternativa tenere il coprioggetto in posizione obliqua e strisciarlo sulla coltura. In entrambi i casi occorre evitare la formazione di bolle d'aria tra i due vetrini.

#### Allestimento del vetrino di Koch

- ▶ Depositare sul bordo esterno della cavità emisferica del vetrino di Koch uno strato sottilissimo di vasellina, facendo attenzione a non farla entrare nella cavità.
- ▶ Aprire provetta contenente la brodocoltura in esame e flamarla velocemente.
- ▶ Sterilizzare l'ansa di metallo per arroventamento sulla fiamma del bunsen, farla raffreddare per 20-30 secondi all'aria, quindi prelevare un'ansata della brodocoltura e depositarla, strisciando l'ansa, sulla parte centrale del vetrino coprioggetto.
- ▶ Riflambare prima di richiuderla la provetta con la coltura di lavoro e il suo tappo.
- ▶ Sovrapporre il vetrino di Koch al vetrino coprioggetto, facendo combaciare la sua cavità con la goccia di coltura. Premere delicatamente in modo che la vasellina depositata sul bordo della cavità faccia da adesivo tra i due vetrini, quindi capovolgete rapidamente: la goccia di coltura deve pendere all'interno della cavità.

#### Osservazione microscopica

- ▶ Osservare al microscopio con l'obiettivo 100x ad immersione in olio, leggendo le relative istruzioni d'uso del microscopio.

**Le cellule batteriche appaiono come forme trasparenti praticamente incolori, contorniate da un sottile bordo più scuro, su fondo illuminato anch'esso incolore.**

- ▶ Descrivere la **forma** e la **disposizione** e l'eventuale **mobilità** delle cellule vegetative del microrganismo in esame, facendo uso dei termini riportati nella precedente illustrazione.