

Apertura de liófilos

Antes de empezar...

1. Las ampollas se deben conservar protegidas de la luz y a temperatura controlada (entre 4 y 24°C, preferiblemente 18°C). No las congele

La CECT garantiza la viabilidad de las cepas durante 1 mes desde su envío. Muchas cepas liofilizadas son viables durante largos periodos de tiempo si se mantienen en condiciones óptimas. Este periodo varía entre las distintas cepas por lo que la CECT no puede asegurar la viabilidad transcurrido el periodo de garantía.

2. Compruebe que dispone del medio de cultivo recomendado para cada cepa y que puede controlar los parámetros fisicoquímicos especificados (temperatura de incubación, condiciones de anaerobiosis...)

Para ello consulte la ficha de la cepa en nuestro catálogo (www.uv.es/cect).

Además del medio líquido necesario para la reconstitución del liófilo, en la mayoría de los casos es conveniente que cuente también con medio sólido.

Los medios a emplear deben estar recién preparados o conservados en buenas condiciones (no resecos ni con humedad excesiva, sin contaminantes ni precipitados, no caducados).

3. Asegúrese de que dispone del material básico apropiado (recipientes para desechar los fragmentos de vidrio, agua estéril, pipetas Pasteur estériles y pinzas metálicas) y de que la infraestructura de su laboratorio le permite trabajar en un entorno de seguridad microbiológica

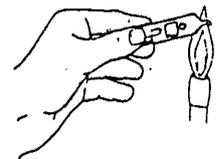
Apertura de la ampolla

1. Calentamiento de la punta a la llama

Dependiendo de la intensidad de la combustión puede requerir entre 5 y 15 segundos (algo más si la llama es muy débil).

Asegúrese que el cono de calor sólo afecta a la punta estrecha de la ampolla para no dañar el liófilo.

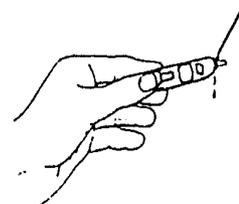
El tapón interior de algodón no debe oscurecerse (pues sería señal de un calentamiento excesivo).



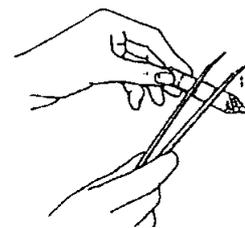
2. Resquebrajado del vidrio con agua estéril

Todas estas operaciones deben hacerse con la debida atención que precisa el manejo de vidrio roto (p. ej. proteja sus ojos, no retire fragmentos con los dedos...).

Dejar caer 1-4 gotas (gota a gota, no a chorro) de agua destilada estéril. Si no se produce ningún agrietamiento repita el paso anterior prolongando un poco el tiempo de calentamiento.



Si en el momento del resquebrajamiento el algodón se dispara hacia adentro es señal de que el calentamiento ha sido excesivo (se desplaza por la entrada violenta de aire). En tal caso, utilizar un asa de picadura para extraerlo hasta el extremo. Para más información recomendamos ver el video con las instrucciones de apertura disponible en nuestra web.



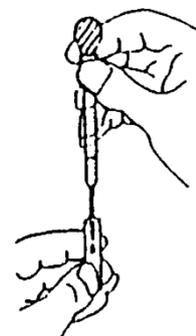
3. Retirada de los fragmentos de vidrio

Si no se hubieran desprendido en el momento de resquebrajarse se pueden retirar con ayuda de unas pinzas previamente flameadas dando un golpe seco como se muestra en la imagen (o con las puntas juntas si queremos que el golpe sea más contundente). Retire el algodón con las pinzas estériles.

Resuspensión del liófilo y siembra

1. Resuspensión

Con ayuda de una pipeta Pasteur añada 0.2-0.3 ml del medio líquido estéril recomendado para el crecimiento del microorganismo a la ampolla de vidrio abierta. Resuspenda cuidadosamente el liófilo ayudándose de la pipeta Pasteur para aspirar y expulsar la suspensión. Hágalo suavemente evitando la formación de burbujas de aire, especialmente si se trata de un microorganismo anaerobio o microaerófilo. Siempre y cuando pueda mantener las condiciones de esterilidad deje la suspensión durante 20-30 minutos hasta conseguir una rehidratación completa.



2. Siembra

Utilice toda la suspensión para inocular un medio sólido (tubo con agar inclinado o placa Petri) y un tubo con 5-10 ml de medio líquido que deberán ser incubados hasta observar crecimiento antes de escalar a volúmenes mayores.

No guardar parte de la suspensión en la propia ampolla como reserva.

En la mayoría de nuestros lotes encontrará un rectángulo de filtro de celulosa. Si lo desea puede transferirlo también ya que muchas células se adhieren a él. Sin embargo, es una operación que requiere un poco de destreza (no es fácil de manipular sin contaminarlo), por lo tanto, procure hacerlo sin comprometer el estado axénico de toda la suspensión.

3. Incubación

Incubar a la temperatura óptima para el microorganismo siguiendo estrictamente las indicaciones de la ficha de la cepa en nuestro catálogo, (p.ej. incubación en anaerobiosis, exposición a la luz, etc.).

Algunas cepas tienen un largo período de latencia. Incubar hasta dos semanas antes de considerar como inviable el cultivo.

Importante

Subcultivar al menos una vez después de la activación y antes de su uso como cepa de trabajo.