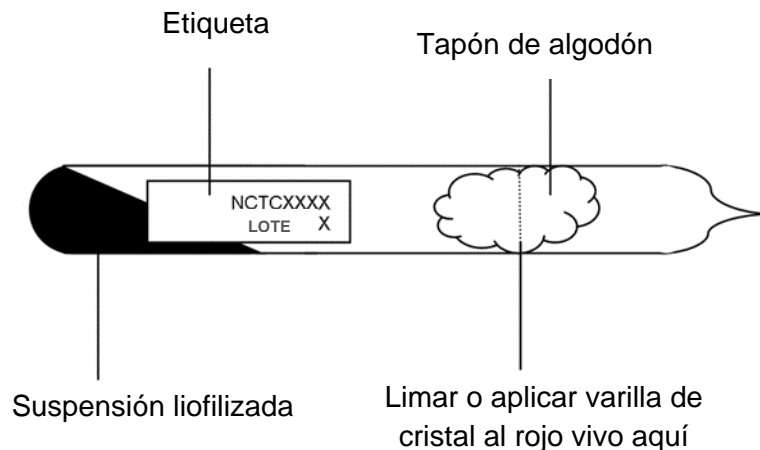


Guía para la apertura de ampollas de vidrio de cultivos tipo de la NCTC y reconstitución del material liofilizado

Consulte la hoja de datos de seguridad de materiales y el certificado de análisis para obtener información más específica sobre los productos individuales disponibles en línea en: www.phe-culturecollections.org.uk/products/bacteria/browse



1. Tras la recepción, conservar las ampollas a una temperatura entre $4\text{ °C} \pm 10\text{ °C}$.
2. **Recomendación de seguridad:** Las ampollas de **PATÓGENOS PELIGROSOS** ([Conditions of Supply of microbial pathogens: Safety](#)) deben abrirse sujetas al nivel de contención establecido por el **Advisory Committee on Dangerous Pathogens** (Comité consultivo sobre patógenos peligrosos) y en una cabina de bioseguridad diseñada para proteger al trabajador contra la inhalación de aerosol (en el Reino Unido, una cabina de Clase I, II o III).
3. Identificar el cultivo por el número indicado en el papel del interior o el exterior de la ampolla, leído desde el extremo redondeado de la ampolla. La ampolla debe abrirse cuidadosamente ya que el contenido se encuentra en una atmósfera de vacío.
4. Para romper las ampollas:
 - Limpiar suavemente el exterior de la ampolla de vidrio con un desinfectante adecuado. Hacer una muesca profunda alrededor de la circunferencia de la ampolla, en el centro de la sección del tapón interior de algodón, utilizando un cortador con punta de diamante o una lima para cristal
 - Envolver la ampolla en una toallita desinfectante. Envolver esto además en una toalla de papel para garantizar una capa de protección adecuada a fin de evitar la penetración de esquirlas de cristal al romper la ampolla. Asegurarse de que se utilizan guantes y gafas de seguridad además de una bata de laboratorio, y de que se trabaja dentro de la cabina de seguridad

- Con la ampolla envuelta, romperla por el lugar donde se marcó la muesca
- Desenvolver cuidadosamente la ampolla, teniendo precaución con los fragmentos de vidrio que pudieran hallarse presentes en el tejido, y desechar la envoltura junto con la punta de la ampolla en un recipiente para objetos punzantes
- Al romper la ampolla, entrará aire filtrado por el tapón de algodón. El tapón puede estar impregnado de cultivo seco y debe desecharse. No manipular el tapón directamente; si se separa de la punta de la ampolla, retirarlo con pinzas
- Continuar en el paso 6 y seguir las instrucciones para reconstituir el contenido de la ampolla

5. Para abrir la ampolla utilizando una fuente de calor:

- Limpiar suavemente el exterior de la ampolla de vidrio con un desinfectante adecuado. Hacer una muesca profunda alrededor de la circunferencia de la ampolla, en el centro de la sección del tapón interior de algodón, utilizando un cortador con punta de diamante o una lima para cristal
- Calentar una varilla delgada de vidrio o una pipeta capilar hasta que la punta esté al rojo vivo y fundida; a continuación aplicar rápida y firmemente el extremo caliente a la muesca para romper la ampolla. Si solo se consigue una pequeña grieta, golpear suavemente en ese punto para completar el círculo
- Si el intento inicial de romper la ampolla no tiene éxito, vuelva a intentarlo utilizando una nueva varilla de vidrio caliente; la punta fundida no debería tener más de 2 o 3 mm de diámetro. Si la ampolla sigue sin romperse, deje que se enfríe durante unos minutos. Compruebe la muesca y, si fuera necesario, vuelva a marcarla para trazar una muesca más larga y profunda. Asegúrese de que la varilla de vidrio/pipeta capilar utilizada se calienta adecuadamente y de que se aplica rápidamente a la muesca antes de que se enfríe
- Al romper la ampolla, entrará aire filtrado por el tapón de algodón. El tapón puede estar impregnado de cultivo seco y debe desecharse. No manipular el tapón directamente; si se separa de la punta de la ampolla, retirarlo con pinzas
- Continuar en el paso 6 y seguir las instrucciones para reconstituir el contenido de la ampolla

6. Reconstitución:

- Con ayuda de una pipeta Pasteur, añadir a la ampolla aproximadamente 0,5 ml del caldo de cultivo (se puede utilizar el caldo de cultivo nutritivo)

estándar), si fuera necesario enriquecido con sangre, y dejar que se rehidrate el contenido entre 5 y 10 minutos. Mezclar cuidadosamente el contenido para evitar la formación de espuma o de aerosol

- Según los requerimientos gaseosos y de crecimiento, la suspensión del caldo debe subcultivarse en un medio o medios adecuados, preferiblemente seleccionados de modo que incluyan un medio sólido, tanto para obtener colonias individuales como para detectar contaminantes aéreos que se puedan introducir durante la apertura de la ampolla. Es necesario tener en cuenta que, para los organismos exigentes, se recomienda utilizar la totalidad de los 0,5 ml del contenido reconstituido de la ampolla en un medio o soporte adecuado
- Desechar la ampolla usada en un recipiente para objetos punzantes.