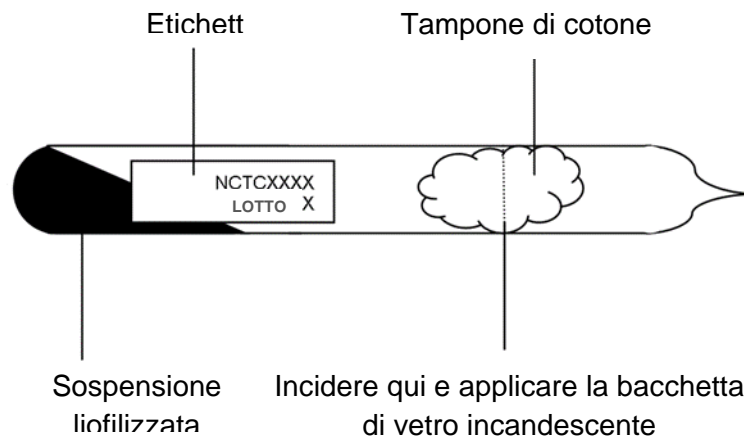


Guida per l'apertura di fiale di vetro NCTC e per la ricostituzione di materiale liofilizzato

Per ottenere informazioni più specifiche sui singoli prodotti, fare riferimento alla Scheda di sicurezza dei materiali e al Certificato di analisi, disponibili online alla pagina: www.phe-culturecollections.org.uk/products/bacteria/browse



1. Dopo la ricezione, conservare le fiale a una temperatura compresa nell'intervallo **4°C ± 10°C**.
2. **Raccomandazioni di sicurezza:** Le fiale di **AGENTI PATOGENI PERICOLOSI** ([Conditions of Supply of microbial pathogens: Safety](#)) devono essere aperte rispettando il livello di contenimento adeguato stabilito dal comitato consultivo sugli agenti patogeni pericolosi (Advisory Committee on Dangerous Pathogens) e all'interno di una cappa di sicurezza biologica, progettata per proteggere l'operatore contro l'inalazione di aerosol (nel Regno Unito, cappa di Classe I, Classe II o Classe III)
3. Identificare la coltura tramite il numero riportato sull'etichetta all'interno o all'esterno della fiala, leggendo il numero a partire dalla base arrotondata del tubetto. Occorre prestare attenzione durante l'apertura della fiala poiché il contenuto è sottovuoto
4. Per l'apertura manuale delle fiale utilizzando le dita:
 - Pulire delicatamente la parte esterna della fiala di vetro utilizzando un disinfettante adeguato. Utilizzando una punta diamantata, una penna con punta diamantata o una lima diamantata per vetro, praticare un'incisione profonda su tutta la circonferenza della fiala, in corrispondenza del centro del tappone di cotone
 - Avvolgere la fiala con un panno imbevuto di disinfettante. Inoltre, avvolgere della carta assorbente intorno al panno per ottenere uno strato protettivo

adeguato a prevenire la penetrazione di frammenti di vetro quando la fiala viene spezzata. Accertarsi di utilizzare guanti e occhiali di sicurezza e un camice da laboratorio e di eseguire l'operazione all'interno di una cappa di sicurezza biologica

- Spezzare la fiala tenendola avvolta del panno in corrispondenza del punto in cui è stata praticata l'incisione
- Rimuovere delicatamente il panno intorno alla fiala, prestando attenzione poiché possono essere presenti frammenti di vetro nel panno, quindi smaltire il panno insieme alla fiala in un contenitore per rifiuti taglienti
- Nel momento in cui la fiala viene spezzata, penetrerà aria, che sarà filtrata dal tampone. Il tampone può essere impregnato di coltura liofilizzata e deve essere smaltito. Evitare il contatto diretto tra le mani e il tampone; in caso di separazione dalla punta della fiala, rimuoverlo con un forcipe
- Procedere al passaggio 6 qui sotto e seguire le istruzioni per la ricostituzione del contenuto della fiala

5. Per l'apertura delle fiale utilizzando una fonte di calore:

- Pulire delicatamente la parte esterna della fiala di vetro utilizzando un disinfettante adeguato. Utilizzando una punta diamantata, una penna con punta diamantata o una lima diamantata per vetro, praticare un'incisione profonda su tutta la circonferenza della fiala, in corrispondenza del centro del tampone di cotone
- Scaldare una bacchetta sottile o un capillare di vetro fino a rendere incandescente e fondere la punta, quindi applicare con decisione l'estremità calda sul segno di incisione per spezzare la fiala. Se la fiala si rompe solo parzialmente, picchiettare delicatamente con le dita sul punto ancora integro per spezzarla completamente
- Se il tentativo iniziale di spezzare la fiala non riesce, ripetere la procedura utilizzando una nuova bacchetta di vetro; il diametro della punta sciolta non deve superare i 2-3 mm. Se la fiala non si spezza, lasciarla raffreddare per qualche minuto. Controllare il segno di incisione e, se necessario, praticare una nuova incisione per ottenere un solco più lungo e profondo. Accertarsi che la bacchetta o il capillare di vetro utilizzato venga riscaldato adeguatamente e venga applicato rapidamente sul segno di incisione prima che si raffreddi
- Nel momento in cui la fiala viene spezzata, penetrerà aria, che sarà filtrata dal tampone. Il tampone può essere impregnato di coltura liofilizzata e deve essere smaltito. Evitare il contatto diretto tra le mani e il tampone; in caso di separazione dalla punta della fiala, rimuoverlo con un forcipe

- Procedere al passaggio 6 qui sotto e seguire le istruzioni per la ricostituzione del contenuto della fiala

6. Ricostituzione:

- Utilizzando una pipetta Pasteur, aggiungere nella fiala circa 0,5 ml di brodo di coltura (è possibile utilizzare brodo nutriente standard), se necessario arricchito con sangue, e lasciare che il contenuto si reidrati per 5-10 minuti. Miscelare il contenuto con cura per evitare la formazione di schiuma o aerosol
- In base alle esigenze gassose e di crescita, la sospensione in brodo deve essere subcoltivata su un terreno o terreni di coltura appropriati, preferibilmente selezionati per includere un terreno solido, sia per ottenere colonie singole, sia per rilevare contaminanti aeriformi che possono essere introdotti durante l'apertura della fiala. Si noti che, per organismi difficili da coltivare, raccomandiamo l'utilizzo dell'intero contenuto della fiala ricostituito da 0,5 ml su un terreno o terreni di coltura appropriati
- Smaltire la fiala usata gettandola in un contenitore per rifiuti taglienti