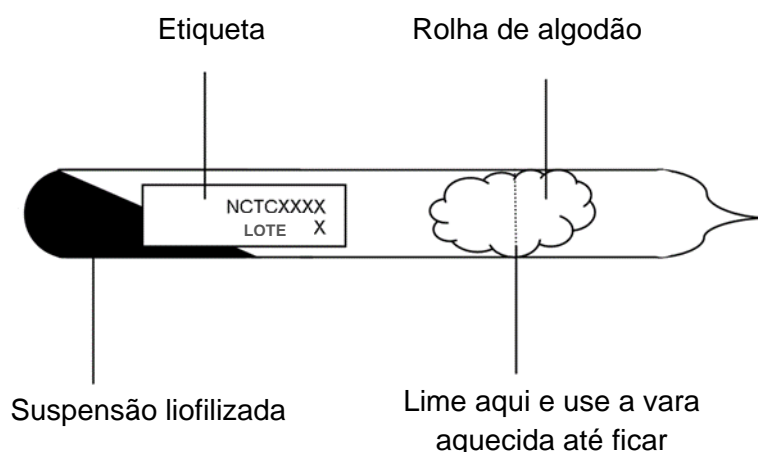


## Guia para abrir ampolas de vidro NCTC e reconstituição de material liofilizado

Consulte a Ficha de Dados sobre Segurança de Materiais e o Certificado de Análise para obter informação mais detalhada sobre os produtos específicos, as quais estão disponíveis online em: [www.phe-culturecollections.org.uk/products/bacteria/browse](http://www.phe-culturecollections.org.uk/products/bacteria/browse)



1. Quando receber as ampolas, guarde-as entre **4°C ± 10°C**.
2. **Recomendações de segurança:** Devem-se abrir ampolas de **PATÓGENOS PERIGOSOS** ([Conditions of Supply of microbial pathogens: Safety](#)) de acordo com o nível de biossegurança adequado do Comité Consultivo dos Agentes Patogénicos Perigosos e numa capela de segurança biológica adequada à proteção do operador contra a inalação de aerossóis (no Reino Unido, uma capela de Classe I, Classe II, ou Classe III).
3. Identifique a cultura através do número no papel dentro ou fora da ampola, lendo a partir da parte redonda do tubo. Tome cuidado ao abrir a ampola, o conteúdo está num vácuo.
4. Para abrir as ampolas ao quebrá-las:
  - Limpe a parte de fora da ampola delicadamente com um desinfetante adequado. Com um corta-vidro de diamante, um x-ato de ponta de diamante ou uma lima de vidro, faça uma marca profunda na circunferência da ampola pelo centro da rolha de algodão
  - Embrulhe a ampola numa pano de desinfetante. Além disso, embrulhe tudo com papel absorvente para garantir uma camada protetora adequada para prevenir a penetração de vidro quando a ampola for quebrada. Assegure-se de que está a usar luvas, óculos protetores e bata de laboratório, bem como de que está a trabalhar dentro da capela de segurança
  - Quebre a ampola embrulhada no local onde a marcou

- Desembrulhe a ampola delicadamente, preste atenção a pedaços de vidro que possam estar presentes no invólucro, e elimine o papel e a ampola num caixote para resíduos de objetos cortantes.
- Quando se quebra a ampola, o ar entra, filtrado pela rolha de algodão. A rolha pode estar impregnada com cultura seca e deve ser eliminada. Não manuseie a rolha diretamente. Se a rolha se separar da ponta da ampola, retire-a com uma pinça
- Siga para o passo 6 abaixo e siga as instruções para reconstituir o conteúdo da ampola

#### 5. Para abrir ampolas com uma fonte de calor:

- Limpe a parte de fora da ampola delicadamente com um desinfetante adequado. Com um corta-vidro de diamante, um x-ato de ponta de diamante ou uma lima de vidro, faça uma marca profunda na circunferência da ampola pelo centro da rolha de algodão
- Aqueça uma vara de vidro ou pipeta capilar até a ponta estar vermelha com o calor e a derreter. De seguida, aplique a parte aquecida rapidamente e com firmeza à marca para quebrar a ampola. Se só criar uma frecha, dê um toque ligeiro nesse local para acabar de abrir a ampola
- Se a primeira tentativa para quebrar a ampola não tiver sucesso, repita usando uma nova vara de vidro aquecida. O diâmetro da ponta derretida não deve ter mais de 2mm-3mm. Se a ampola mesmo assim não quebrar, deixe arrefecer por uns minutos. Verifique a marca feita e, se necessário, faça uma marca mais profunda e longa. Assegure-se de que a vara de vidro/capilar está suficientemente aquecida e de que a aplica rapidamente na marca antes de arrefecer
- Quando se quebra a ampola, o ar entra, filtrado pela rolha de algodão. A rolha pode estar impregnada com cultura seca e deve ser eliminada. Não manuseie a rolha diretamente. Se a rolha se separar da ponta da ampola, retire-a com uma pinça
- Siga para o passo 6 abaixo e siga as instruções para reconstituir o conteúdo da ampola

#### 6. Reconstituição:

- Com uma pipeta adicione à ampola aproximadamente 0,5ml de caldo (pode usar caldo de nutrientes normal), enriquecido com sangue se necessário, e deixe o conteúdo reidratar durante 5-10 minutos. Misture o conteúdo cuidadosamente, para evitar espuma ou criação de aerossóis
- Consoante os requisitos gasosos e de crescimento, a suspensão do caldo deverá ser submetida a uma subcultura num meio ou meios adequados e

escolhidos, de preferência, de forma a conter um meio sólido, tanto para obter colónias individuais como para detetar contaminantes no ar que possam ser introduzidos durante a abertura da ampola. Atenção: para organismos de cultura difícil recomendamos o uso, na sua totalidade, dos 0,5ml de conteúdo reconstituído da ampola num meio ou meios adequados

- Elimine a ampola usada num recipiente para objetos corantes.