

## OTEVÍRÁNÍ A OŽIVOVÁNÍ LYOFILIZOVANÝCH KULTUR Bakterie, kvasinky, houby

Ampule otevírejte opatrně, neboť jsou pod vakuem. Při náhlém odlomení hrotu může dojít k prudkému stržení zátky na dno a ke zvíření vysušené kultury. Dodržujte uvedený pracovní postup, zabráníte tím kontaminaci kultury, případně vlastní infekci. Pro oživení kultur použijte média a kultivační podmínky uvedené v Katalogu kultur CCM.

1. Zkontrolujte číslo kultury na štítku uvnitř ampule; na rubu štítku je uvedeno datum výroby (měsíc, rok).
2. Pilníkem na sklo nařízněte ampuli proti středu zátky.
3. Dezinfikujte povrch ampule gázou smočenou v alkoholu.
4. K zářezu přiložte rozžhavenou skleněnou tyčinku tak, aby sklo prasklo, a ponechte zvolna proniknout vzduch do ampule.
5. Odlomte zahrocený horní konec ampule a vložte jej do dezinfekčního roztoku. Dolní část ampule uzavřete původní molitanovou zátkou.
6. Přidejte k vysušené suspenzi asi 0,3 ml bujónu (u bakterií) nebo destilované vody (u hub). Opatrně promíchejte sterilní Pasteurovou pipetou a ponechte několik minut stát.
7. Suspenzi přeneste na vhodné pevné médium, popř. u bakterií i do tekutého média.
8. Inkubujte několik dnů za optimálních podmínek.
9. Veškeré zbytky původní ampule vložte do dezinfekčního roztoku a autoklávu.

Většina oživených kultur vyrostle během několika dnů. Některé kultury vyžadují delší inkubační dobu, proto případné reklamace nevyrostlé kultury podávejte po 1–3 týdnech.

***Neotevřené ampule skladujte v temnu a chladnu.***

## OŽIVOVÁNÍ KULTUR ZE ŽELATINOVÝCH DISKŮ

Při přípravě subkultury ze želatinových disků dodržujte doporučený pracovní postup. Pro oživení použijte média a kultivační podmínky uvedené v Katalogu kultur CCM. U většiny kontrolních kmenů mikroorganismů vyhovuje kultivace na šikmém agar, v případě anaerobních bakterií lze použít kultivaci ve vysokém sloupci tekutého média nebo kultivaci na Petriho misce v anaerobní atmosféře.

### **Aerobní bakterie a kvasinky (kultivace na šikmém agaru):**

1. Lahvičku vyndejte z chladničky a ponechte 10 minut při pokojové teplotě, aby při otevření nedošlo ke kondenzaci vody v lahvičce.
2. Vyzíhanou, lehce teplou očkovací jehlou se dotkněte disku tak, aby se přilepil na jehlu a přeneste jej do kondenzní vody na dně šikmého agaru (není-li, přikápněte bujon).
3. Inkubujte 1–4 hodiny při optimální teplotě.
4. Nakloňte zkumavku a pozvolným pohybem nechte suspenzi buněk stéci po celém povrchu šikmého agaru.
5. Inkubujte při optimální teplotě, zpravidla 24–48 hodin.

### **Anaerobní bakterie (kultivace v tekutém médiu):**

1. Lahvičku vyndejte z chladničky a ponechte 10 minut při pokojové teplotě, aby při otevření nedošlo ke kondenzaci vody v lahvičce.
2. Vyzíhanou, lehce teplou očkovací jehlou se dotkněte disku tak, aby se přilepil, a přeneste jej do zkumavky s bujonem ve sloupci vysokém nejméně 10 cm.
3. Inkubujte za optimálních podmínek, zpravidla 24–48 hodin.

### **Vláknité houby (kultivace na Petriho misce):**

1. Lahvičku vyndejte z chladničky a ponechte 10 minut při pokojové teplotě, aby při otevření nedošlo ke kondenzaci vody v lahvičce.
2. Vyzíhanou, lehce teplou očkovací jehlou se dotkněte disku tak, aby se přilepil na jehlu, a přeneste jej do středu Petriho misky a zakápněte cca 5 kapkami sterilní destilované vody.
3. Nechejte stát 30 minut při laboratorní teplotě.
4. Sterilní kličkou rozočkejte suspenzi spor po celém povrchu Petriho misky.
5. Inkubujte 3–5 dnů při optimální teplotě.

***Takto připravené kultury slouží pro jednorázové použití. Pro přípravu další subkultury použijte nový disk.***