

UNA VARIANTE DEL METODO DE SORDELLI PARA LA CONSERVACION DE CEPAS MICROBIANAS POR DESECACION AL VACIO.

por

NORBERTO J. PALLERONI ¹ Y MARÍA J. R. DE PRITZ ²

INTRODUCCION

En el V Congreso Internacional de Microbiología celebrado en Río de Janeiro, SORIANO (1950) propuso individualizar con el nombre de método de SORDELLI un procedimiento ideado por este último unos 20 años antes para conservar cepas microbianas por desecación rápida en el vacío (3). La forma más práctica, según SORIANO, consiste en depositar una cantidad del cultivo en un tubo pequeño esterilizado previamente y tapado con algodón; se adhiere una etiqueta con las referencias indispensables y se coloca en un tubo de KAHN, que lleva dos lentejas de KOH y dos o tres perlas de vidrio de 4 o 6 mm. de diámetro sobre las cuales se apoya el tubito evitando así que se adhiera al hidróxido y se caliente el fondo al hidratarse esta sustancia. Se cierra el tubo de KAHN con un tapón de goma atravesado por un capilar de vidrio, que se funde a la llama una vez practicado el vacío, y se parafinan las uniones de vidrio y goma para prevenir posibles pérdidas.

El procedimiento que se describe en la presente comunicación constituye una modificación del descripto por SORIANO. Dado que las variantes propuestas no representan una alteración fundamental del que viene siendo aplicado con éxito en el Instituto de Microbiología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires, nos creemos autorizados para afirmar que sus resultados serán prácticamente los mismos y que son aplicables los tiempos de duración (aún no es-

- 1 Profesor Extraordinario de Microbiología, Agrícola e Industrial de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Univ. Nac. de Cuyo.
- 2 Jefe de la Sección Microbiología del Instituto de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.
- 3 Estando en prensa el presente trabajo apareció en la Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires un artículo de S. SORIANO describiendo en detalle el método de SORDELLI. Ver SORIANO (1951).

tablecidos en cifras máximas para muchos casos) señalados para distintos grupos de microorganismos.

Las razones que nos han conducido a modificar el método original en algunos de sus detalles han sido, fundamentalmente, la dificultad de adquisición, en nuestro medio, de los elementos que requiere su aplicación y el temor de que pudiera disminuir el vacío al cabo de algunos años dado que la escasa humedad ambiental de esta región de nuestro país podría causar una contracción por desecación de los tapones de goma aún contando con un buen parafinado de las uniones.

Prácticamente, el único inconveniente de la variante propuesta reside en que cada tubo sólo es usado una vez, desventaja compensada por el bajo costo del caño de vidrio que es utilizado en su ejecución.

Hemos practicado la desecación al vacío en todos los cultivos de levaduras (unas 450 cepas, cerradas por duplicado) que forman la colección de nuestro instituto. A pesar de que confiamos ampliamente en la eficacia del procedimiento, la colección se mantendrá conservada simultáneamente en tubos de agar de medio nutritivo apropiado, hasta un tiempo prudencial que pueda corroborar nuestra confianza en el cómodo procedimiento.

Sin contar con las numerosas ventajas que señalan al método de SORDELLI como de enorme utilidad, la desecación al vacío presenta en nuestra zona un interés especial dadas las condiciones de sequedad del aire que nos obligan a trasplantar con mucha frecuencia los cultivos conservados por los procedimientos comunes.

DESCRIPCION DEL METODO

Se usa caño de vidrio común de unos 7 mm. de diámetro interno y 1 mm. de espesor de paredes, cortados en trozos de unos 17 cm. de largo. Cada trozo se cierra a la llama por uno de sus extremos, tratando de evitar una acumulación excesiva de vidrio que podría quebrarse durante el enfriamiento; se tapan los tubos con algodón y se esterilizan al horno seco a 160-170°C durante una hora.

Con un ansa de alambre de dimensiones apropiadas se deposita en el fondo de cada tubo una porción de la pasta microbiana proveniente del desarrollo durante 24 a 48 horas en un buen medio de cultivo (de preferencia solidificable), se hunde el tapón hasta unos 6 cm. del fondo, introduce un nuevo tapón de algodón (no necesariamente esterilizado) y echa por la boca del tubo, mantenido verticalmente, unos trocitos de hidróxido de potasio en lentejas machacadas previamente en mortero, pu-

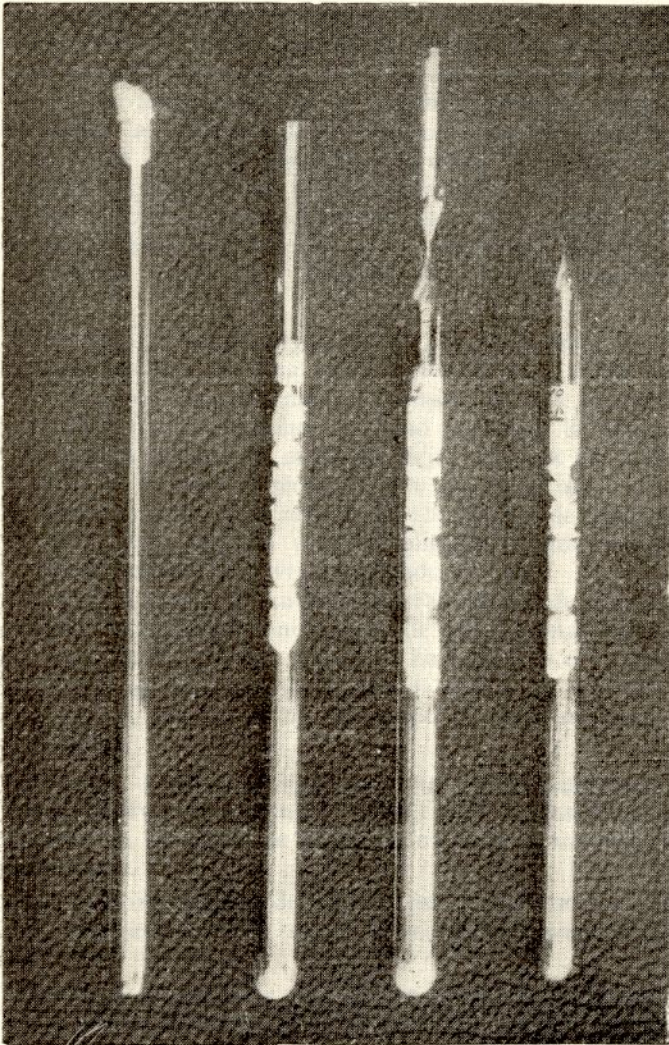


Figura I. — (De izquierda a derecha): Tubo estéril listo para comenzar las distintas operaciones que comprende el método; tubo conteniendo el cultivo y los elementos descriptos en el texto; tubo estirado y listo para practicar el vacío; tubo cerrado a la llama luego de haber efectuado el vacío.

diendo utilizarse directamente 3 o 4 lentejas si el diámetro del tubo lo permite. Se introduce un nuevo taponcito de algodón y comprime suavemente los trocitos de hidróxido; finalmente coloca una pequeña etiqueta de 1.5 cm. de largo por 0.5 cm. de ancho, con las anotaciones que se juzgue necesarias. Resulta cómodo bordear las etiquetas de un margen coloreado dibujándolas sobre un trozo de papel con trazos gruesos de lápices de colores y cortar luego siguiendo la línea media del trazo. De ese modo pueden utilizarse colores diferentes para cada grupo microbiano que se conserve en colección, p. ej., azul para bacterias, rojo para levaduras, verde para hongos, etc., u otra combinación cualquiera.

Cada tubo se estira calentando a la llama a unos 3 o 4 cm. del extremo abierto, en una zona limitada para evitar que se carbonice el papel. Es conveniente el empleo de una mariposa sobre el mechero para aprovechar el ancho menor de la llama aplanaada. El estirón se hará de modo de dejar una luz no mayor de 2 a 3 mm. en la zona estrechada, y se ha de insistir en la llama sin llegar a cerrar totalmente el tubo, a fin de engrosar las paredes de la zona estirada y evitar pliegues cuando se trata de cerrar definitivamente una vez practicado el vacío.

La bomba usada en nuestro laboratorio puede dar un grado de vacío, bajo ciertas condiciones, de sólo algunas décimas de micrón, pero en la práctica, según lo ha indicado el mismo Dr. SORDELLI, no es necesario un grado de vacío tan elevado. Los tubos se cierran cuando se ha alcanzado el vacío máximo dado por la bomba.

La figura 1 muestra algunas de las etapas sucesivas hasta el cierre definitivo de los tubos, y la figura 2, las dimensiones aproximadas de las distintas zonas de un tubo listo para ser sometido al vacío.

Para la conservación definitiva, puede llevarse los tubos a heladera, a unos 3 o 4 °C, según se recomienda para el método original.

Cuando se desea abrir uno de los tubos, se marca con una lima en la zona que media entre el taponcito estéril y el inferior en contacto con el hidróxido, y corta con un simple movimiento de flexión y de tracción. Cuando el grado final de vacío es muy elevado, puede resultar más seguro efectuar un primer corte más arriba (p. ej., por debajo de la etiqueta) de modo de evitar que el taponcito estéril sea empujado hacia el fondo por la entrada brusca de aire. De cualquier modo, tal cosa no ocurre cuando el primer tapón tiene un grado de compresión apropiado. Se echa unas gotas de un buen medio de cultivo líquido, se pone en sus-

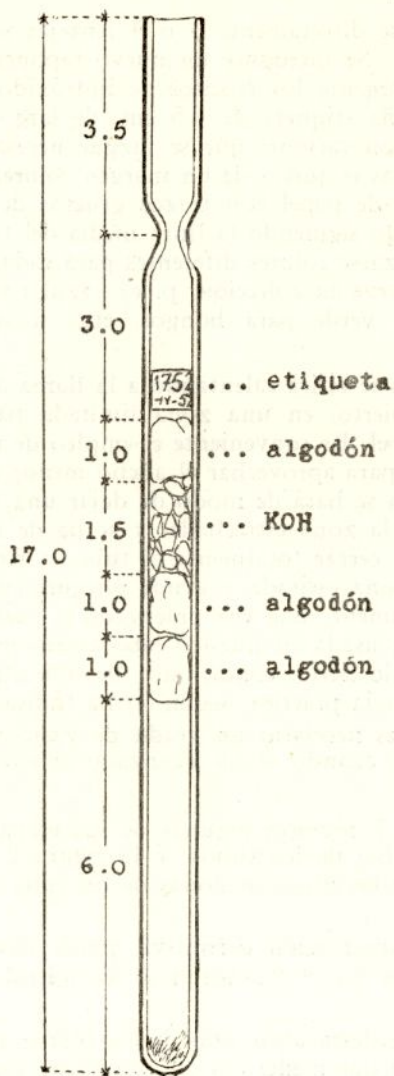


Figura 2. — Dimensiones aproximadas de las distintas zonas de un tubo listo para aplicar a la bomba de vacío.

pensión la masa de los gérmenes y con la misma pipeta capilar, se transplanta una o dos gotas de la suspensión a un tubo de medio líquido. Se adhiere a éste el tubito chico y se incuban ambos a la temperatura óptima de desarrollo para el germen en cuestión.

RESUMEN

Se describe un método de conservación de cepas microbianas por desecación al vacío, modificación del método de SORDELLI. La modificación consiste en el empleo de un solo tubo, de 7 mm. de diámetro interno y 1 mm. de espesor de paredes. Se deposita la pasta microbiana en el fondo de los tubos esterilizados, hunde el tapón de algodón e introduce algunos trocitos de KOH comprimidos suavemente entre dos trocitos de algodón. Introduce la etiqueta con las anotaciones necesarias y cierra al vacío por fusión del vidrio en una zona previamente estirada a la llama.

El método, aún cuando no modifica en sus fundamentos al procedimiento original, presenta como ventajas el uso de un solo tubo y la seguridad del mantenimiento por tiempo indefinido del grado de vacío alcanzado por la bomba utilizada.

SUMMARY

A method for the preservation of microbial cultures in vacuum is described, modifying SORDELLI's procedure. The modification consists in the use of a single tube of 7 mm. of inner diameter and 1 mm. of wall thickness. The culture is introduced and stuck to the bottom of the sterilized tubes, the cotton plug is pushed and a few pieces of KOH are introduced and compressed between two cotton plugs. The label with the required references is put and the tube is sealed through a previously narrowed place, after a good vacuum is obtained.

The procedure does not modify fundamentally the original method, but has the advantages of the use of a single tube and the guarantee of vacuum permanence.

- (1) SORIANO, S., *El método de Sordelli para la conservación de cultivos microbianos*. V Congreso Internacional de Microbiología, Libro de Resúmenes, pág. 32, 1950.
- (2) SORIANO, S., *Conservación de microorganismos desecados en el vacío por el método de Sordelli*. Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria, XIII: 14, 1951.