



1 AMOSTRA

Utilizar a cultura pura de *N. gonorrhoeae*, realizada de acordo com a Instrução Rápida - Cultura, isolamento e repique, com **crescimento de 16 – 20 horas em ágar chocolate**.

Observação: Culturas com crescimento superior a 24 horas formam grumos, dificultando a turvação no caldo de congelamento e podem dificultar a recuperação do isolado posteriormente. Caso a cultura tenha mais de 24 horas de crescimento, sugere-se realizar um novo repique e armazenar com o tempo de crescimento adequado.

2 ORIENTAÇÕES PARA O CONGELAMENTO

- a) Separar os dois criotubos contendo caldo Casoy + 20% glicerol (previamente identificados e enviados pelo LBMMS (Alíquota 1 e 2).
- b) Conferir o preenchimento do Formulário do Projeto SenGono referente ao seu serviço, com o código da amostra identificada no criotubo (seguir em ordem sequencial).
- c) Deixar os dois criotubos contendo caldo Casoy + 20% glicerol atingirem a temperatura ambiente.
- d) Com o auxílio de uma alça microbiológica descartável (utilizar preferencialmente a parte do cabo da alça), coletar uma quantidade generosa do crescimento bacteriano presente no meio de ágar chocolate e adicioná-las ao criotubo contendo caldo Casoy + 20% de glicerol.
- e) Iniciar friccionando a alça na parede do criotubo e aos poucos ir adicionando ao caldo, até a dissolução completa da colônia e turvação do meio.
- f) Observar a turvação. Caso esteja pouco turvo, repetir o procedimento do item d) até a formação de um inóculo com uma boa turvação.
Observação: Evitar rasgar o ágar chocolate juntamente com as colônias, pois pode dificultar a dissolução das colônias. Dissolver completamente a colônia, evitando que fiquem grumos.
- g) Colocar os criotubos em uma criobox e congelar imediatamente em **freezer - 80°C** ou em nitrogênio líquido.

Observação: Isolados de *N. gonorrhoeae* **NÃO** se mantem viáveis em outras temperaturas, por isso sempre manter em freezer -70°C, - 80°C ou em nitrogênio líquido e **NUNCA** armazenar em freezer -20°C.