

Italiano

Spagnolo

Inglese

Italiano

Biofilie medium

Abbiamo creato questa ricetta con l'intento di avere un medium per la coltivazione batterica facile da fare in casa. Abbiamo testato questo protocollo a Barcellona presso il Wetlab di Hangar, recuperando tutti gli ingredienti senza comprarli su internet e andando al supermercato. Tenete quindi presente che i loro costi e reperibilità è altamente dipendente dall luogo in cui abbiamo lavorato e saremo quindi interessate a capire l'accessibilità degli ingredienti in diversi contesti.

Abbiamo poi coltivato sia batteri già isolati che quelli presenti nel nostro fluido vaginale, con ottimi risultati. Di seguito trovate tutte le informazioni necessarie per svolgere la preparazione ma se avete dubbi non esitate a chiederci. Saremmo poi curiose di ricevere i vostri feedback e in caso cambiare il protocollo.

Il progetto Biofilie Lab fa parte di un lavoro più ampio chiamato Alma Toolkit, un insieme di strumenti e pratiche educative per l'autoesplorazione, un mezzo fondamentale portato avanti dai collettivi femministi per riappropriarsi del corpo. La microbiologia, la scienza e i laboratori sono ancora oggi ambiti inaccessibili ma fondamentali perché non neutrali e che a loro volta creano categorie e identità che sono soggette ad una gerarchia delle conoscenze. Per questo motivo abbiamo deciso di sviluppare questo protocollo e di concentrarci sul microbioma vaginale, ovvero l'insieme dei micro-organismi con cui viviamo in simbiosi. Ci auguriamo che questo protocollo possa diventare sempre più accessibile e che possa servire per comprendere meglio questa simbiosi.

Sul microbiota vaginale

Il microbiota è l'insieme dei microrganismi presenti nel, sul e con il corpo umano. Ne fanno parte batteri ma anche virus, miceti e protozoi. La scienza ha suddiviso in distretti localizzati nelle diverse aree del corpo, quindi si parla di microbiota vaginale, intestinale, orale, cutaneo, etc... ognuno differente dall'altro ma in realtà in stretta comunicazione e simbiosi. Nell'area vaginale c'è una relazione omeostatica e mutualistica tra il microbiota e l'ospite umano: l'ospite fornisce un habitat umido, nutriente e caldo ai microbi, mentre il microbiota residente produce fattori antimicrobici e antinfiammatori. La maggior parte dei microbiomi vaginali è dominata da specie di *Lactobacillus* singole o multiple rispettivamente da *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* e *L. jensenii*, mentre alcune persone possono avere un'elevata diversità della comunità microbica caratterizzata da altri batteri anaerobici.

Le specie di lattobacilli prosperano nell'ambiente anaerobico vaginale e producono acido lattico per mantenere un livello di pH basso (tra 3,8 e 4,5), che aiuta a proteggere il microbioma della vagina dagli agenti patogeni dannosi. Occupano spazio sulla parete vaginale per evitare che altri batteri nocivi vi rimangano e producono batteriocine (l'antibiotico naturale del corpo) per impedire la crescita dei batteri nocivi. Quando nel microbioma vaginale non ci sono abbastanza batteri protettivi come i lattobacilli, batteri disturbanti come *Gardnerella*, *E.coli* e *Mycoplasma* possono prendere il sopravvento e causare disbiosi vaginale. Disbiosi vaginale è un termine generico usato per descrivere uno stato di squilibrio del microbioma vaginale. Il tipo più comune di disbiosi vaginale è un'infezione chiamata vaginosi batterica (BV), che è clinicamente definita come una crescita eccessiva di batteri di disturbo nel microbioma vaginale.

La specie di *Lactobacillus* dominante determina l'entità della protezione dell'ecosistema vaginale. Ad esempio, la disbiosi e la bassa stabilità sono solitamente correlate al microbiota vaginale dominato da *L. iners*. Al contrario, la salute e l'elevata stabilità della comunità vaginale sono rafforzate da *L. crispatus*, che fornisce gli acidi lattici necessari.

Sulla coltivazione batterica

La coltivazione batterica è una tecnica di laboratorio usata per identificare colonie batteriche presenti nel nostro fluido vaginale. Di fatto si crea un terreno specifico al cui interno ci sono gli alimenti di cui i batteri vanno ghiotti, favorendone in questo modo la crescita in modo da poterli osservare. Al giorno d'oggi le tecniche stanno diventando sempre più sofisticate ma abbiamo deciso di recuperare questo genere di conoscenza e pratica perché la riteniamo accessibile come strumento per conoscere il nostro corpo.

Se pur utilizzata anche per la diagnosi di infezioni specifiche, nel nostro caso il protocollo è pensato per lo più per entrare in contatto con il microbioma vaginale e aprire riflessioni e discussioni.

Il protocollo di Biofilie funziona bene con funghi (*Candida albicans*) e lactobacilli (*Gasseri* e *Jensenii*). Funzionerebbe anche con *Gardnerella* ma essendo un batterio anaerobico, che quindi non sopravvive a contatto con l'ossigeno, ci è risultato difficile sviluppare la tecnica relativa al batterio.

Ingredienti e costi (in euro e approssimativi):

- Cibo per pesci. Prezzo 4 euro
- Polisorbato 80: è un grasso iposolubile che si usa per fare i saponi. Lo abbiamo trovato reperibile in un negozio ma è molto più probabile che si debba comprare su internet. Se vi vengono in mente altri grassi solubili in acqua sono ben accetti suggerimenti! Prezzo: 6 euro
- Estratto di lievito. Nome commerciale è marmite ma non avendolo trovato abbiamo usato il Viandel. Prezzo: 5 euro (marmite su internet costa 15 euro)
- AgarAgar (gelatina vegetale). Prezzo 8 euro
- Acqua distillata. Prezzo: 3 euro

Totale costo: 25-30euro

Strumentazione

- Pentola a pressione: una normalissima pentola a pressione che funziona bene al posto dell'autoclave per la sterilizzazione dei terreni specifici. Prezzo: 30 euro
- Flacone in vetro borosilicato: una bottiglia in vetro borosilicato dove aggiungere gli ingredienti e inserire nella pentola a pressione per sterilizzare il contenuto. Prezzo: 5-10euro



- Tape per autoclave: è uno scotch adesivo che si colora per confermare l'avvenuta sterilizzazione. Non è obbligatorio ma se accessibile lo consigliamo. Prezzo: 10 euro



- Inoculatori: noi abbiamo usato dei rimuovi punti neri in metallo :) che funzionano davvero bene come inoculatori e sono facili da sterilizzare e riutilizzare. Prezzo: 5-9euro



- Petri di plastica o di vetro: fondamentali per la cultura batterica. Prezzo: 0,70 cent a petri (plastica)
- Parafilm: è un tipo di nastro elastico e cerato con cui potete sigillare il petri per evitare la contaminazione ma permettendo al vapore di uscire. Prezzo: 3 euro
- Candele: necessarie per quando verserete il medium nel petri e per l'inoculazione dei batteri se non avete una camera di sterilizzazione. Prezzo 10 euro (x100 pezzi)
- Tamponi: per raccogliere il fluido vaginale. Sembrano dei cotton fioc ma più lunghi. Prezzo: 9 euro
- Speculum: si trova in farmacia anche se per esperienza abbiamo scoperto che in alcuni luoghi bisogna un po' insistere per averlo. Prezzo: 1 euro
- Tampone Vaginale: si trova in farmacia. Prezzo: 1.10 euro

- Incubatrice per uova: funziona molto bene per l'incubazione dei petri e per permettere ai batteri di crescere. Potete usare sia un'incubatrice per uova di galline che una per uova di serpente. Prezzo: 30 euro
- Specchio e luce per osservare la tua cervice: consigliamo uno specchio piccolo e portatile e una luce portatile da libro o flash del telefono

Totale costo strumentazioni: 133 euro

Istruzioni

*La contaminazione è un fenomeno interessante ma è meglio evitarla per capire se il terreno funziona e crescono candida o lactobacilli. Quindi fate sempre attenzione che gli strumenti che usate siano sterili, usate alcool al 96% diluito con acqua, guanti, etc...

Preparare il medium (considerando 1l di acqua)

- 15gr di Agar in polvere
- 10 gr di cibo di pesce

*Consiglio: polverizzatelo e mettetelo ad infusione in acqua distillata a 60°. Ricordatevi che l'acqua distillata ci mette poco ad evaporare. Filtrate e aggiungete al composto.

- 4gr di estratto di lievito
- 1gr di Polisorbato 80
- 2gr di aceto bianco al 4-5%
- 1l di acqua distillata

Mischiate bene!

Mettete nella pentola a pressione, con a parte 20gr di agave per evitare che caramellizzi il composto. Da quando la pentola a pressione inizia a fischiare contate 20minuti. Per essere sicure che abbia sterilizzato vi consigliamo di usare lo scotch apposta che da verde si colorerà di nero se la sterilizzazione è avvenuta.

Mischiate l'agave al resto del composto.

Preparare i petri

In un laboratorio di solito viene usata una camera di sterilizzazione sia per la preparazione dei petri che per l'inoculazione. Oppure potete costruire una cassa di sterilizzazione ma noi non ci siamo trovate bene e abbiamo preferito usare il metodo antico delle candele.

Posizionate cinque candele come a formare una stella a cinque punte, lavorate all'interno di quell'area, cercando di non parlare e respirare dal naso, spruzzate ogni tanto l'alcool.

- Prima che il medium si indurisca versate il contenuto nei petri all'interno della stella di candele
- Mano a mano che li preparate, chiudete i petri con il parafilm e metteteli in una scatola con all'interno delle candele per lasciar raffreddare finchè non si indurisce (tempo circa 1 ora)

Raccogliere il campione

Potete raccogliere il campione senza bisogno dello speculum ma per esperienza abbiamo visto che in questo modo è possibile raccogliere maggiore fluido con minore quantità di cellule epiteliali.

- Prendere lo speculum e usarlo come da immagine
- Una volta trovata la cervice, inserire il tampone e raccogliere del fluido tra la cervice e il canale vaginale
- I lactobacilli sono semi-anaerobici nel senso che hanno una certa tolleranza all'ossigeno ma non sopravvivono a lungo per cui non aspettate troppo tempo per inocularli.
- Lo speculum raccoglierà molto fluido per cui utilizzate anche quello per l'inoculazione

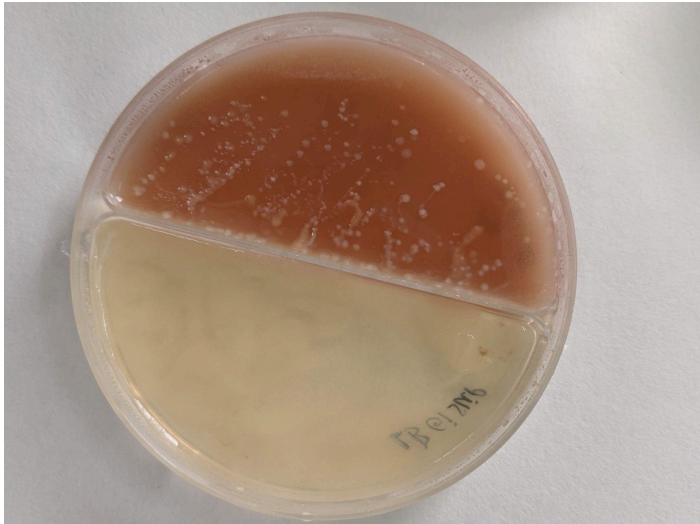
Inoculare e incubare

- Lavorando sempre all'interno della stella di candele, prendete i petri raffreddati (controllate che siano effettivamente induriti).
- Con un inoculatore raccogliete il campione che vi interessa (da tampone, da speculum, da mutande, etc...) e strisciate sulla superficie del medium disegnando delle linee a zigzag
- Chiudete il petri e sigillate con il parafilm
- Mettete in incubatrice a testa in giù impostando l'incubatrice a 37°. La candida cresce già in una notte mentre i lactobacilli sono lenti e ci vorranno circa tre giorni di incubazione. I cicli di crescita dei batteri sono di circa 12 ore quindi potete di tanto in tanto andare a controllare come stanno crescendo le colonie.

Queste sono le immagini di riferimento che abbiamo fatto per darvi un'idea della differenza tra candida e lactobacilli. In alcuni casi potrete vedere entrambi.



Candida



Lactobacilli

Mantenimento dei batteri e del medium

I batteri crescono quando hanno gli alimenti necessari e la temperatura ideale. Per bloccarne la crescita è possibile mettere i petri sigillati in freezer ibernandoli. Consigliamo di inserirli in una scatola di polistirolo e di tenerli comunque separati da alimenti. I batteri non sono eterni per cui, se tenuti fuori dal freezer si nutriranno e formeranno ulteriori colonie finchè moriranno. Il medium non utilizzato si indurirà e potete tenerlo in frigo per qualche giorno. Se lo volete riutilizzare, mettetelo in microonde o a bagnomaria per fluidificarlo.

E' importante avere cura del loro smaltimento. Sugeriamo di autoclavare il medium in modo da disattivare la crescita batterica e sterilizzare i materiali. Mettete il petri (se di vetro) con il medium per 30 minuti a 121gradi. Altrimenti potete usare la soluzione alcolica.

Sono organismi per cui buttateli nell'umido e separate il medium dal petri di plastica. Se usate i petri di vetro sterilizzateli con l'autoclave e riutilizzateli senza problemi.

Nota sulla responsabilità e sicurezza

Se pur estratti dal vostro corpo i batteri mantengono comunque la loro capacità di interazione e simbiosi con l'ecosistema in cui sono inseriti e quindi anche con voi e con il vostro spazio. Non crediamo in una visione patologica del rapporto che abbiamo con i micro-organismi che sempre ci circondano. La parola *Contaminazione* viene definita dal vocabolario italiano come "*Contatto fisico o morale perturbatore dell'equilibrio igienico o dei valori tradizionali o individuali; corruzione*". L'accezione morale di una interazione biologica sta alla base di una visione che prevede una superiorità pura e positiva che non deve essere sporcata. Non crediamo nella contaminazione come una lesione morale ma come un mescolamento di elementi eterogenei che possono creare qualcosa di nuovo che non ha un'accezione morale ma piuttosto di responsabilità. Alcuni batteri e funghi che crescerete nel petri o che contamineranno (nel senso biologico) la cultura batterica possono interagire con voi e il vostro corpo, o quello di altre persone. Riteniamo sia importante riflettere su ciò e averne cura. E perché no aprire ad ulteriori riflessioni sulle nostre responsabilità quando i nostri microbiota interagiscono tra loro.

Alcuni suggerimenti non morali su come assumersi questa responsabilità, ma ci farebbe piacere raccogliere ulteriori consigli e riflessioni:

- Curare lo spazio in cui lavorate, pulendo gli oggetti e le superfici.

- Predisporre spazi e materiali appositi che userete per questi esperimenti e magie. E possibilmente separarli da ciò che usate nelle vostre giornate in cucina o nel resto dello spazio.
- Lo stesso vale per l'uso del frigorifero e freezer. Non mischiate batteri e alimenti.
- E' solo una questione di equilibri e attenzione; non di scientifica sterilità.
- Anche i batteri sono soggetti alla legge che può essere molto restrittiva su questi esperimenti. Per esempio non viaggiate mai con i batteri in valigia :)
- Abbiate cura di coloro che possono essere in una condizione di deficit immunologico, ovvero il cui sistema immunitario a causa di altre patologie è esposto ad alti rischi in caso di contagio con virus e batteri.

Medio Biofilie

Creamos esta receta con la intención de disponer de un medio de cultivo bacteriano fácil de hacer en casa. Probamos este protocolo en Barcelona, en el Hangar Wetlab, recuperando todos los ingredientes sin necesidad de comprarlos en Internet ni ir al supermercado. Por lo tanto, hay que tener en cuenta que su coste y disponibilidad es muy subjetivo al lugar donde trabajamos y nos interesará conocer la accesibilidad de los ingredientes en diferentes lugares. A continuación, cultivamos tanto las bacterias ya aisladas como las presentes en nuestro flujo vaginal, con excelentes resultados. A continuación encontrarás toda la información necesaria para llevar a cabo la preparación, pero si tienes alguna duda, no dudes en preguntarnos. Estaremos encantados de recibir tus comentarios y, si es necesario, modificar el protocolo.

El proyecto Biofilie Lab forma parte de un trabajo más amplio llamado Alma Toolkit, un conjunto de herramientas y prácticas educativas para la autoexploración, un medio fundamental que llevan a cabo los colectivos feministas para reapropiarse del cuerpo. La microbiología, la ciencia y los laboratorios siguen siendo campos inaccesibles pero fundamentales porque no son neutros y a su vez crean categorías e identidades sujetas a una jerarquía de conocimientos. Por eso decidimos desarrollar este protocolo y centrarnos en el microbioma vaginal, es decir, el conjunto de microorganismos con los que vivimos en simbiosis. Esperamos que este protocolo sea cada vez más accesible y que sirva para comprender mejor esta simbiosis.

La microbiota vaginal

La microbiota es el conjunto de microorganismos presentes en, sobre y con el cuerpo humano. Incluye bacterias, pero también virus, micetos y protozoos. La ciencia la ha subdividido en distritos localizados en distintas zonas del cuerpo, así hablamos de microbiota vaginal, intestinal, oral, cutánea, etc., cada una diferente de la otra pero en realidad en estrecha comunicación y simbiosis. En la zona vaginal, existe una relación homeostática y mutualista entre la microbiota y el huésped humano: el huésped proporciona un hábitat húmedo, nutritivo y cálido para los microbios, mientras que la microbiota residente produce factores antimicrobianos y antiinflamatorios. La mayoría de los microbiomas vaginales están dominados por una o varias especies de *Lactobacillus* de *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* y *L. jensenii* respectivamente, mientras que algunas personas pueden tener una gran diversidad de comunidad microbiana caracterizada por otras bacterias anaerobias.

Las especies de *Lactobacillus* prosperan en el entorno vaginal anaeróbico y producen ácido láctico para mantener un nivel de pH bajo (entre 3,8 y 4,5), lo que ayuda a proteger el microbioma vaginal de patógenos nocivos. Ocupan espacio en la pared vaginal para evitar que otras bacterias nocivas permanezcan allí y producen bacteriocinas (el antibiótico natural del cuerpo) para impedir el crecimiento de bacterias nocivas. Cuando no hay suficientes bacterias protectoras como los lactobacilos en el microbioma vaginal, las

bacterias perturbadoras como Gardnerella, E. coli y Mycoplasma pueden tomar el control y causar disbiosis vaginal. Disbiosis vaginal es un término genérico utilizado para describir un estado de desequilibrio del microbioma vaginal. El tipo más común de disbiosis vaginal es una infección llamada vaginosis bacteriana (VB), que se define clínicamente como un crecimiento excesivo de bacterias perturbadoras en el microbioma vaginal.

La especie de Lactobacillus dominante determina el grado de protección del ecosistema vaginal. Por ejemplo, la disbiosis y la baja estabilidad suelen correlacionarse con una microbiota vaginal dominada por L. iners. Por el contrario, la salud y la alta estabilidad de la comunidad vaginal se ven reforzadas por L. crispatus, que proporciona los ácidos lácticos necesarios.

Acerca del cultivo bacteriano

El cultivo bacteriano es una técnica de laboratorio utilizada para identificar colonias bacterianas en nuestro flujo vaginal. De hecho, se crea un medio específico en el que hay alimentos que gustan a las bacterias, favoreciendo así su crecimiento para que puedan ser observadas. Hoy en día las técnicas son cada vez más sofisticadas, pero hemos decidido recuperar este tipo de conocimiento y práctica porque lo consideramos accesible como herramienta para conocer nuestro cuerpo.

Aunque también se utiliza para el diagnóstico de infecciones específicas, en nuestro caso el protocolo está pensado sobre todo para entrar en contacto con el microbioma vaginal y abrir reflexiones y debates.

El protocolo Biofilie funciona bien con hongos (candida albicans) y lactobacilos (gasseri y jensenij). También funcionaría con gardnerella, pero al tratarse de una bacteria anaerobia, que por tanto no sobrevive en contacto con el oxígeno, nos resultó difícil desarrollar la técnica para esta bacteria.

Ingredientes y costes (en euros y aproximados):

- Alimento para peces. Precio 4 euros
- Polisorbato 80: Se trata de una grasa hiposoluble utilizada para fabricar jabones. Lo encontramos disponible en una tienda pero es mucho más probable que tengas que comprarlo por internet. Si se te ocurren otras grasas hidrosolubles, ¡las sugerencias son bienvenidas! Precio: 6 euros
- Extracto de levadura. El nombre comercial es marmite pero como no lo encontramos utilizamos Viandel. Precio: 5 euros (el marmite en internet cuesta 15 euros)
- AgarAgar (gelatina vegetal). Precio: 8 euros
- Agua destilada. Precio: 3 euros

Coste total: 25-30euro

Equipo

- Olla a presión: una olla a presión normal que funciona bien en lugar de un autoclave para esterilizar medios específicos. Precio: 30 euros

- Botella de vidrio borosilicato: una botella de vidrio borosilicato donde se añaden los ingredientes y se introduce en la olla a presión para esterilizar el contenido. Precio: 5-10euro
- Cinta autoclave: una cinta adhesiva de color para confirmar que se ha producido la esterilización. No es obligatoria pero la recomendamos si es accesible. Precio: 10 euros
- Inoculadores: utilizamos quita espinillas metálicos :) que funcionan muy bien como inoculadores y son fáciles de esterilizar y reutilizar. Precio: 5-9euros
- Placas de Petri de plástico o cristal: imprescindibles para el cultivo bacteriano. Precio: 0,70 céntimos por petri (de plástico)
- Parafilm: es un tipo de cinta elástica y encerada con la que puedes sellar la placa de Petri para evitar la contaminación pero permitir la salida del vapor. Precio: 3 euros
- Velas: necesarias para cuando viertas el medio en la placa de Petri y para inocular las bacterias si no tienes cámara de esterilización. Precio: 10 euros (x100 unidades)
- Hisopos: para recoger el flujo vaginal. Parecen bastoncillos de algodón pero más largos. Precio: 9 euros
- Espéculo: se puede encontrar en farmacias, aunque por experiencia hemos comprobado que en algunos sitios hay que insistir un poco para conseguirlo. Precio: 1 euro
- Tampón vaginal o lo de Covid: se puede encontrar en farmacias. Precio: 1,10 euros
- Incubadora de huevos: funciona muy bien para incubar placas de Petri y permitir el crecimiento de bacterias. Puedes utilizar una incubadora de huevos de gallina o una incubadora de huevos de serpiente. Precio: 30 euros
- Espejo y luz para observar el cuello del útero: recomendamos un espejo pequeño y portátil y una luz de libro portátil o un flash de teléfono.

Coste total del equipo: 133 euros

Instrucciones

*La contaminación es un fenómeno interesante, pero es mejor evitarla para ver si el medio funciona y crecen candidas o lactobacilos. Así que cuida siempre que el instrumental que utilices sea estéril, utiliza alcohol al 96% diluido en agua, guantes, etc.

Prepara el medio (considerando 1l de agua)

*Puedes ver el documental que hicimos como referencia para ver como trabajamos, los errores que hicimos y las cosas que aprendimos.

- 15 g de agar en polvo
- 10gr de alimento para peces

*Consejo: pulverizarlo e infusionarlo en agua destilada a 60°. Recuerda que el agua destilada tarda poco en evaporarse. Filtrar y añadir a la mezcla.

- 4 g de extracto de levadura
- 1gr de Polisorbato 80
- 2gr de vinagre blanco 4-5%
- 1l de agua destilada

Mezclar bien.

Poner en la olla a presión, con 20g de agave al lado para evitar que la mezcla se caramelize. Desde el momento en que la olla a presión empiece a pitar contar 20 minutos. Para asegurarte de que se ha esterilizado, te recomendamos que utilices la cinta adhesiva suministrada para este fin, que pasará de verde a negro si se ha producido la esterilización. Mezclar el agave con el resto de la mezcla.

Preparación de las placas de Petri

En un laboratorio, se suele utilizar una cámara de esterilización tanto para la preparación de las placas de Petri como para la inoculación. También puedes construir una arqueta de esterilización, pero a nosotros no nos convencía y preferimos utilizar el antiguo método de las velas. Coloca cinco velas como para formar una estrella de cinco puntas, trabaja dentro de esa zona, intentando no hablar y respirar por la nariz, rocía alcohol de vez en cuando. Antes de que el medio se endurezca, vierte el contenido en las placas petri dentro de la estrella de velas.

A medida que las vayas preparando, sella las placas de Petri con parafilm y colócalas en una caja con velas dentro para que se enfríen hasta que se endurezcan (tiempo aproximado 1 hora)

Recogida de la muestra

Puedes recoger la muestra sin necesidad del espéculo, pero por experiencia hemos visto que de esta forma se puede recoger más líquido y menos células epiteliales.

Tome el espéculo, pongate lubricante y insertalo en tu vagina cerrado con el mango en el lateral. Cuando está adentro, gira el mango hasta arriba y empieza a abrir. Deja a tu canal vaginal el tiempo de abrir y mueve el espejo hasta que no ves tu cervix.

Una vez localizado el cuello uterino, introduzca el hisopo y recoja líquido entre el cuello uterino y el canal vaginal. Para quitarte el espejo, déjelo salir lentamente y luego ciérrelo mientras sale.

Los lactobacilos son semi-anaerobios en el sentido de que tienen cierta tolerancia al oxígeno, pero no sobreviven mucho tiempo, así que no esperes demasiado para inocularlos. El espéculo recogerá mucho líquido, así que utilízalo también para la inoculación.

Inocular e incubar

- Trabajando siempre dentro de la estrella de vela, coge las placas de Petri enfriadas (comprueba que estén realmente endurecidas).
- Utilizando un inoculador, toma la muestra que te interese (de un hisopo, espéculo, ropa interior, etc...) y úntala en la superficie del medio dibujando líneas en zigzag.
- Cierra la placa de Petri y sállala con parafilm.
- Colocar en la incubadora boca abajo, ajustando la incubadora a 37°. La candida crece de un día para otro, mientras que los lactobacilos son lentos y tardarán unos tres días en incubarse. Los ciclos de crecimiento de las bacterias son de unas 12 horas por lo que de vez en cuando puedes ir comprobando cómo van creciendo las colonias.
- Estas son las fotos de referencia que tomamos para que te hagas una idea de la diferencia entre candida y lactobacilos. En algunos casos se pueden ver ambos.

Mantenimiento de las bacterias y el medio

Las bacterias crecen cuando tienen el alimento necesario y la temperatura ideal. Para detener su crecimiento, puedes poner las placas de Petri selladas en el congelador, hibernándolas. Se recomienda colocarlas en una caja de poliestireno y mantenerlas separadas de los alimentos en cualquier caso. Las bacterias no son eternas, por lo que si se mantienen fuera del congelador se alimentarán y formarán más colonias hasta que mueran. El medio no utilizado se endurece y puedes guardarlo en la nevera unos días. Si quieres reutilizarlo, ponlo en el microondas o al baño María para fluidificarlo.

Es importante tener cuidado con su eliminación. Sugerimos esterilizar el medio en autoclave para desactivar el crecimiento bacteriano y esterilizar los materiales. Coloque la placa de Petri (si es de vidrio) con el medio durante 30 minutos a 121 grados. Si no, puedes utilizar una solución alcohólica.

Son organismos, así que tíralos a la húmeda y separa el medio de la placa de Petri de plástico. Si utilizas placas de Petri de vidrio, esterilízalas en autoclave y reutilízalas sin problemas.

Nota sobre responsabilidad y seguridad

Aunque se extraigan de tu cuerpo, las bacterias siguen conservando su capacidad de interacción y simbiosis con el ecosistema en el que están incrustadas y, por tanto, contigo y tu espacio. No creemos en una visión patológica de nuestra relación con los microorganismos que siempre nos rodean. El diccionario italiano define la palabra *contaminación* como "*contacto físico o moral que altera el equilibrio higiénico o los valores tradicionales o individuales; corrupción*". El significado moral de una interacción biológica subyace a una visión de superioridad pura y positiva que no debe ensuciarse. No creemos en la contaminación como una lesión moral sino como una mezcla de elementos heterogéneos que pueden crear algo nuevo que no tiene un significado moral sino de responsabilidad. Algunas bacterias y hongos que crecen en la placa de Petri o que contaminan (en el sentido biológico) el cultivo bacteriano pueden interactuar contigo y con tu cuerpo, o con el de otras personas. Creemos que es importante reflexionar sobre ello y cuidárselo. Y por qué no abrirnos a una reflexión más profunda sobre nuestras responsabilidades y cuidados cuando nuestros microbiomas interactúan.

Aquí van algunas sugerencias no morales sobre cómo asumir esta responsabilidad, pero agradeceríamos más consejos y reflexiones:

- Cuida el espacio en el que trabajas, limpiando objetos y superficies.
- Prepara espacios y materiales especiales que utilizarás para estos experimentos y magia. Y, a ser posible, sepáralos de lo que utilizas a diario en la cocina o en el resto del espacio.
- Lo mismo se aplica al uso de la nevera y el congelador. No mezcles bacterias y alimentos.
- Es sólo una cuestión de equilibrio y cuidado; no de esterilidad científica.
- Las bacterias también están sujetas a la ley, que puede ser muy restrictiva con estos experimentos. Por ejemplo, no viajes con bacterias :)
- Tenga cuidado con las personas que puedan estar en estado de deficiencia inmunológica, es decir, cuyo sistema inmunitario debido a otras enfermedades esté expuesto a altos riesgos en caso de contagio con virus y bacterias.

English

Biofilie medium

We created this recipe with the intention of having a medium for bacterial cultivation that is easy to make at home. We tested this protocol in Barcelona at Hangar Wetlab, retrieving all the ingredients without buying them on the Internet and going to the supermarket. Therefore, keep in mind that their cost and availability is highly subjective to where we worked and we will be interested in understanding the accessibility of ingredients in different locations. We then cultivated both bacteria already isolated and those present in our vaginal fluid, with excellent results. Below you will find all the information you need to carry out the preparation, but if you have any doubts, do not hesitate to ask us. We would then be curious to receive your feedback and if necessary change the protocol.

The Biofilie Lab project is part of a larger work called the Alma Toolkit, a set of educational tools and practices for self-exploration, a fundamental means carried out by feminist collectives to reappropriate the body. Microbiology, science and laboratories are still inaccessible but fundamental fields because they are not neutral and in turn create categories and identities that are subject to a hierarchy of knowledge. This is why we decided to develop this protocol and focus on the vaginal microbiome, i.e. the set of micro-organisms with which we live in symbiosis. We hope that this protocol will become more and more accessible and that it will serve to better understand this symbiosis.

About the vaginal microbiota

The microbiota is the collection of micro-organisms present in, on and with the human body. It includes bacteria, but also viruses, mycetes and protozoa. Science has subdivided it into districts located in different areas of the body, so we speak of vaginal, intestinal, oral, skin, etc. microbiota, each one different from the other but actually in close communication and symbiosis. In the vaginal area, there is a homeostatic and mutualistic relationship between the microbiota and the human host: the host provides a moist, nutritious and warm habitat for the microbes, while the resident microbiota produces antimicrobial and anti-inflammatory factors. Most vaginal microbiomes are dominated by single or multiple *Lactobacillus* species from *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* and *L. jensenii* respectively, while some people may have a high diversity of microbial community characterised by other anaerobic bacteria.

Lactobacillus species thrive in the anaerobic vaginal environment and produce lactic acid to maintain a low pH level (between 3.8 and 4.5), which helps protect the vaginal microbiome from harmful pathogens. They occupy space on the vaginal wall to prevent other harmful bacteria from remaining there and produce bacteriocins (the body's natural antibiotic) to prevent the growth of harmful bacteria. When there are not enough protective bacteria such as *Lactobacilli* in the vaginal microbiome, disturbing bacteria such as *Gardnerella*, *E.coli* and *Mycoplasma* can take over and cause vaginal dysbiosis. Vaginal dysbiosis is a generic term used to describe a state of imbalance of the vaginal microbiome. The most common type of

vaginal dysbiosis is an infection called bacterial vaginosis (BV), which is clinically defined as an overgrowth of disruptive bacteria in the vaginal microbiome.

The dominant *Lactobacillus* species determines the extent to which the vaginal ecosystem is protected. For instance, dysbiosis and low stability are usually correlated with a vaginal microbiota dominated by *L. iners*. In contrast, the health and high stability of the vaginal community is enhanced by *L. crispatus*, which provides the necessary lactic acids.

About bacterial cultivation

Bacterial cultivation is a laboratory technique used to identify bacterial colonies in our vaginal fluid. In fact, a specific medium is created in which there are foods that the bacteria are fond of, thus promoting their growth so that they can be observed. Nowadays techniques are becoming more and more sophisticated, but we have decided to recover this kind of knowledge and practice because we consider it accessible as a tool to get to know our bodies.

Although it is also used for the diagnosis of specific infections, in our case the protocol is mostly designed to get in touch with the vaginal microbiome and open up reflections and discussions.

The Biofilie protocol works well with fungi (*Candida albicans*) and lactobacilli (*Gasseri* and *Jensenii*). It would also work with *Gardnerella*, but being an anaerobic bacterium, which therefore does not survive in contact with oxygen, we found it difficult to develop the technique for this bacterium.

Ingredients and costs (in euros and approximate):

- Fish food. Price 4 euro
- Polysorbate 80: This is a hyposoluble fat used to make soaps. We found it available in a shop but it is much more likely that you have to buy it on the internet. If you can think of other water-soluble fats, suggestions are welcome! Price: 6 euro
- Yeast extract. Commercial name is marmite but as we could not find it we used Viandel. Price: 5 euro (marmite on the internet costs 15 euro)
- AgarAgar (vegetable gelatine). Price 8 euro
- Distilled water. Price: 3 euro

Total cost: 25-30euro

Equipment

- Pressure cooker: an ordinary pressure cooker that works well in place of an autoclave for sterilising specific media. Price: 30 euros
- Borosilicate glass bottle: a borosilicate glass bottle where you add the ingredients and insert into the pressure cooker to sterilise the contents. Price: 5-10euro
- Autoclave tape: an adhesive tape that is coloured to confirm that sterilisation has taken place. It is not obligatory but we recommend it if accessible. Price: 10euro

- Inoculators: we used metal blackhead removers :) which work really well as inoculators and are easy to sterilise and reuse. Price: 5-9euros
- Plastic or glass Petri dishes: essential for bacterial culture. Price: 0.70 cent per petri (plastic)
- Parafilm: is a type of elastic, waxed tape with which you can seal the petri dish to prevent contamination but allow steam to escape. Price: 3 euro
- Candles: necessary for when you pour the medium into the petri dish and for inoculating the bacteria if you do not have a sterilisation chamber. Price 10 euro (x100 pieces)
- Swabs: for collecting vaginal fluid. They look like cotton buds but longer. Price: 9 euros
- Speculum: can be found in pharmacies, although from experience we have found that in some places you have to insist a bit to get it. Price: 1 euro
- Vaginal tampon: can be found in pharmacies. Price: 1.10 euro
- Egg incubator: works very well for incubating petri dishes and allowing bacteria to grow. You can use either a chicken egg incubator or a snake egg incubator. Price: 30 euro
- Mirror and light to observe your cervix: we recommend a small, portable mirror and a portable book light or phone flash

Total cost of equipment: 133 euro

Instructions

*Contamination is an interesting phenomenon but it is best to avoid it to see if the soil is working and candida or lactobacilli are growing. So always take care that the instruments you use are sterile, use 96% alcohol diluted with water, gloves, etc..

Prepare the medium (considering 1l of water)

15 g powdered agar

10gr fish food

*Tip: pulverise it and infuse it in distilled water at 60°. Remember that distilled water takes a short time to evaporate. Filter and add to the mixture.

4 g yeast extract

1gr Polysorbate 80

2gr of 4-5% white vinegar

1l distilled water

Mix well!

Place in the pressure cooker, with 20g agave on the side to prevent the mixture from caramelising. From when the pressure cooker starts to whistle count 20minutes. To make sure it has sterilised, we recommend using the scotch tape provided for this purpose, which will turn from green to black if sterilisation has taken place.

Mix the agave with the rest of the mixture.

Preparing petri dishes

In a laboratory, a sterilisation chamber is usually used for both petri dish preparation and inoculation. Or you can build a sterilisation chest but we were not happy with this and preferred to use the ancient method of candles. Place five candles as if to form a five-pointed star, work within that area, trying not to talk and breathe through your nose, sprinkle alcohol every now and then.

Before the medium hardens, pour the contents into the petri dishes inside the star of candles.

As you prepare them, seal the petri dishes with parafilm and place them in a box with candles inside to allow them to cool until they harden (time about 1 hour)

Collecting the sample

You can collect the sample without needing the speculum, but from experience we have seen that more fluid can be collected this way with less epithelial cells.

Take the speculum and use it as shown in the picture

Once the cervix is found, insert the swab and collect fluid between the cervix and the vaginal canal

Lactobacilli are semi-anaerobic in the sense that they have some tolerance to oxygen but do not survive long so do not wait too long to inoculate them.

The speculum will collect a lot of fluid so use that for inoculation as well

Inoculate and incubate

Always working inside the candle star, take the cooled petri dishes (check that they are actually hardened).

Using an inoculator, pick up the sample you are interested in (from a swab, speculum, underwear, etc...) and smear it on the surface of the medium drawing zigzag lines

Close the petri dish and seal with parafilm

Place in incubator upside down, setting the incubator at 37°. Candida grows overnight while lactobacilli are slow and will take about three days to incubate. The growth cycles of the bacteria are about 12 hours so you can occasionally go and check how the colonies are growing.

These are the reference pictures we took to give you an idea of the difference between candida and lactobacilli. In some cases you can see both.

Candida

Lactobacilli

Maintenance of bacteria and medium

Bacteria grow when they have the necessary food and the ideal temperature. To stop their growth, you can put sealed petri dishes in the freezer by hibernating them. We recommend placing them in a polystyrene box and keeping them separate from food in any case.

Bacteria are not eternal, so if kept out of the freezer they will feed and form further colonies until they die. Unused medium will harden and you can keep it in the fridge for a few days. If you want to reuse it, put it in a microwave or water bath to fluidise it.

It is important to take care with their disposal. We suggest autoclaving the medium in order to deactivate bacterial growth and sterilise the materials. Place the petri dish (if glass) with the medium for 30 minutes at 121 degrees. Otherwise you can use alcohol solution. They are organisms so throw them in the wet and separate the medium from the plastic petri dish. If you use glass petri dishes, sterilise them in an autoclave and reuse them without any problems.

Note on responsibility and safety

Although extracted from your body, bacteria still retain their capacity for interaction and symbiosis with the ecosystem in which they are embedded and thus also with you and your space. We do not believe in a pathological view of our relationship with the micro-organisms that always surround us. The word Contamination is defined by the Italian dictionary as 'physical or moral contact that disrupts the hygienic balance or traditional or individual values; corruption'. The moral meaning of a biological interaction underlies a vision of a pure and positive superiority that must not be soiled. We do not believe in contamination as a moral injury but as a mixing of heterogeneous elements that can create something new that does not have a moral meaning but rather one of responsibility. Some bacteria and fungi that you grow in the petri dish or that contaminate (in the biological sense) the bacterial culture may interact with you and your body, or that of other people. We think it is important to reflect on this and take care of it. And why not open to further reflection on our responsibilities and care when our microbiomes interact with each other.

Here are some non-moral suggestions on how to take on this responsibility, but we would welcome further advice and thoughts:

- Take care of the space in which you work, cleaning objects and surfaces.
- Prepare special spaces and materials that you will use for these experiments and magic. And possibly separate them from what you use in your days in the kitchen or the rest of the space.
- The same applies to the use of the fridge and freezer. Don't mix bacteria and food.
- It is just a matter of balance and care; not scientific sterility.
- Bacteria are also subject to the law, which can be very restrictive on these experiments. For example, do not travel with bacteria :)
- Take care of those who may be in an immunological deficiency condition, i.e. whose immune system due to other diseases is exposed to high risks in case of contagion with viruses and bacteria.