

## Comunicación breve

Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología

### Conservación de microorganismos: ¿qué debemos conocer?

Lic. Zulia Weng Alemán,<sup>1</sup> Téc. Olvido Esther Díaz Rosa<sup>2</sup> y Téc. Inalvis Álvarez Molina<sup>3</sup>

#### RESUMEN

Con el objetivo de dar a conocer los principales aspectos que han de tenerse en cuenta para la conservación de microorganismos, se presenta una comunicación breve. En ella se expone la importancia de los microorganismos para la sociedad, los objetivos de un buen método de preservación y los criterios a considerar para la elección de la(s) técnica(s) más apropiada(s).

*Palabras clave:* Conservación y preservación de microorganismos, cultivos microbianos, colección de cultivos, viabilidad.

Desde tiempos remotos los microorganismos han sido empleados como materiales esenciales de trabajo en la obtención de medicamentos (antibióticos, vitaminas y aminoácidos), elaboración de alimentos (pan, queso, leche, bebidas y licores) y fabricación de solventes y reactivos, entre otras aplicaciones. El creciente uso de estos materiales biológicos en la biotecnología y la protección medioambiental han fortalecido la necesidad de mantener los cultivos microbianos de manera que las propiedades que los hacen importantes permanezcan estables.

La preservación de cepas microbianas no es tarea fácil y debe garantizar la viabilidad, pureza y estabilidad genética de los cultivos, características que coinciden con los objetivos de un buen método de conservación.<sup>1-3</sup> El conocimiento de las peculiaridades de las disímiles técnicas de preservación existentes para su correcta aplicación, así como el seguimiento continuo de las propiedades de las cepas, propician su empleo como inóculo confiable en la industria, la docencia y la investigación.

Con frecuencia la elección de la técnica más adecuada para conservar cultivos microbianos resulta difícil, pues deben tomarse en consideración los criterios de viabilidad y pureza de las cepas, cambios poblacionales y genéticos, número y valor de los cultivos, costo, suministro y transporte de cepas, así como la frecuencia del uso de los cultivos.<sup>2,4</sup>

El método de conservación que se elija debe garantizar la supervivencia de al menos el 70 % de las células por un período considerable de tiempo, de forma tal que la población sobreviviente se asemeje a la original como sea posible, conserve las propiedades de importancia de los cultivos y minimice la ocurrencia de los eventos genéticos. De igual manera debe reducir al mínimo el riesgo de contaminación y permitir que la pureza del cultivo permanezca inalterable.

En relación con el número y valor de los cultivos, debe considerarse el tiempo a emplear por los curadores en la preservación inicial, manipulación y control periódico de las cepas, el espacio de almacenamiento disponible y su importancia, al ser empleadas en su mayoría como materiales de referencia en el aseguramiento de la calidad microbiológica. Es recomendable entonces la selección de al menos 2 métodos de conservación que brinden seguridad y reduzcan los riesgos de pérdida durante el almacenamiento.

Por su parte, en lo que respecta al costo de la conservación de cepas se incluyen los costos de personal, equipos y su mantenimiento, materiales y facilidades generales (almacenamiento y poder de abastecimiento). A esto se le suma la distribución, para la cual se necesitarán réplicas conservadas y empaquetadas convenientemente que permitan la llegada al lugar de destino en las mejores condiciones. Los microorganismos son enviados por varios medios: correo aéreo, postal o a través de las manos, de un laboratorio a otro dentro de un mismo país y con frecuencia a través de las fronteras o continentes.<sup>5</sup> Su distribución y manipulación está regulada en el ámbito internacional y nacional, y para su transportación es necesario el uso del “triple” empaque<sup>6-8</sup> para asegurar que todo el personal involucrado en este proceso esté protegido de la exposición a cualquier agente contenido en el envase. Algunos cultivos son empleados como cepas controles, cepas de ensayo, cepas de producción industrial y pueden ser utilizadas frecuentemente en un laboratorio. En estos casos, la facilidad del recobrado y el riesgo de contaminación de los cultivos necesitan ser considerados.<sup>2,4,9</sup>

Variadas técnicas se encuentran disponibles para la conservación de microorganismos y para eso debe considerarse lo recomendado por la Federación Mundial de Colecciones de Cultivos (WFCC, siglas en inglés), en sus guías generales, la cual enuncia que por seguridad y para minimizar la probabilidad de pérdida de las cepas, cada una debe ser mantenida por al menos 2 procedimientos diferentes.<sup>10</sup> En general, existen 3 categorías en las que se agrupan los métodos de preservación según el tiempo en que permanecen viables las células conservadas, que son los métodos de conservación a largo, mediano y corto plazos.

Clasifican en la primera de estas categorías la congelación (a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y la liofilización<sup>1-4</sup> como técnicas que minimizan al máximo el riesgo de cambio genético en las células y las mantienen viables por 10 años o más, ventajas que han condicionado su extensa utilización para conservar disímiles materiales biológicos (cultivos de hongos, bacterias y levaduras, algas, suero, células sanguíneas, entre otros) y que sean reconocidas como técnicas de elección. El elevado costo de los equipos que emplean estos métodos dificulta su implementación en muchas instituciones, las que en ocasiones hacen uso del servicio de mantenimiento y conservación mediante estos, los cuales brindan colecciones de cultivos reconocidas.

A mediano plazo, es el término que agrupa las técnicas con las que se logran mantener la viabilidad de los cultivos entre 2 y 5 años. Se destacan en este grupo la desecación en diferentes soportes (arena, sílica gel, perlas de vidrio) donde la paralización del crecimiento se produce por eliminación del agua disponible,<sup>1-3,9</sup> así como el almacenamiento en tierra, parafina líquida y la suspensión en agua estéril (destilada o de mar), métodos bien documentados en especial para los hongos.

La resiembra periódica es una técnica que permite la supervivencia de los cultivos en cortos períodos de tiempo, por eso se reconoce como un método de conservación a corto plazo.<sup>2,9</sup> Se basa en transferir el cultivo del medio seco a uno fresco proporcionándole las condiciones óptimas de crecimiento, lo que condiciona el elevado riesgo de contaminación y variabilidad de las características de las cepas, las cuales constituyen sus principales desventajas.

Por último, es frecuente encontrar que una técnica de preservación resulte más efectiva para un grupo microbiano que para otro, lo que indica que además de considerar los aspectos anteriores es necesario revisar la literatura disponible sobre los microorganismos en cuestión y las alternativas de mantenimiento utilizadas, y adecuarlas a la situación real de la organización. Podemos entonces resaltar que no existe una técnica universal para conservar adecuadamente todos los microorganismos.

## SUMMARY

### **Preservation of microorganisms: what should be known?**

With the objective of showing the main aspects that should be taken into account for microorganism preservation, a communication, the objectives of a good preserving method and the criteria to be considered for the selection of most appropriate techniques were presented in this paper.

*Key words:* Preservation of microorganisms, microbial cultures, culture collection, viability.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García MD, Uruburu F. La conservación de cepas microbianas . Act SEM. 2000;30:12-6.
2. Castro G, Hernández JT, Aquino C. Manual sobre conservación de microorganismos. México: Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. 2000:21.
3. Floccari M. Métodos de conservación de cultivos bacterianos. Rev Arg Microbiol. 1998;30:42-51.
4. Smith D, Green P, Day J. Management and maintenance of culture collections. Presentado en: Curso Taller Internacional sobre gerencia y mantenimiento de colecciones de cultivos. Instituto de Sueros y Vacunas Finlay . La Habana. 2000:22.
5. Smith D, Rhode Ch, Holmes B. Handling and distribution of microorganisms and the law. Microbiol Today. 1999;26:14-6.
6. Organización Mundial de la Salud. Laboratory Biosafety Manual. Génova: OMS. 2003:109.
7. Rhode Ch, Claus D, Malik KA. Packing and shipping of biological materials: some instructions, legal requirements and international regulations. Technical information sheet Publication No.14. Braunschweig: Unesco/WFCC-Education Committee. 1995:4.

8. Richmond JY, McKinney RW. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Atlanta: Center for Disease Control. 1999:196.
9. Snell JJS. General introduction to maintenance methods. In: Kirsop BE, Doyle A, eds. Maintenance of microorganisms and cultured cells. A manual of laboratory methods. London: Academic Press. 1991:21-30.
10. Hawksworth DL, Sastramihardja I, Kokke R, Stevenson R. Guidelines for the establishment and operation of collections of cultures of microorganisms. World Federation of Culture Collection Standard Committee . UK: Simwoth Press. 1999:24.

Recibido: 18 de junio de 2005. Aprobado: 12 de agosto de 2005.

Lic. *Zulia Weng Alemán*. Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM). Infanta 1158 e/ Llinás y Clavel, Ciudad de La Habana, Cuba. Email : [ccm@inhem.sld.cu](mailto:ccm@inhem.sld.cu)

<sup>1</sup> **Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Investigadora Agregada. Instructora.**

<sup>2</sup> **Técnica A en Laboratorio Sanitario.**

<sup>3</sup> **Técnico en Procesos Biológicos.**