

Microbiología sanitaria

Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM)

Colección de cultivos microbianos. Apuntes sobre su desarrollo

[Zulia Weng Alemán,¹ Raquel de los Angeles Junco Díaz² y Olvido Esther Díaz Rosa³](#)

Resumen:

La colección de cultivos microbianos del Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Cuba (INHEM), con más de 10 años de existencia, ha tenido como misión fundamental la provisión de microorganismos tipo para el control de la calidad de los medios de cultivo y reactivos que se producen en la institución, los que se emplean en el control microbiológico de muestras ambientales. Desde mediados de la década de los años ochenta, un desarrollo gradual ha condicionado su diversificación en cuanto a funciones, especies bacterianas y servicios científico - técnicos. Se han obtenido como logros más significativos el mantenimiento de 290 cepas bacterianas viables, el establecimiento de un sistema de la calidad acorde con los de acreditación vigentes, y el suministro externo de microorganismos como materiales de referencia.

DeCS: LABORATORIOS/normas; ENTEROBACTERIACEAE/aislamiento o purificación; MEDIOS DE CULTIVO; CONTROL DE CALIDAD.

Las colecciones bacterianas son el resultado inmediato de necesidades individuales,¹ por lo que disímiles son las causas que fomentan su creación. En el Departamento de Microbiología Sanitaria del Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Cuba (INHEM), la disponibilidad de microorganismos de referencia para el desarrollo del trabajo, constituyó la premisa básica que condicionó el surgimiento del laboratorio de cepario, en la actualidad colección de cultivos microbianos del INHEM (CCINHEM). Fundado a mediados de los años ochenta, en sus inicios sólo contaba con alrededor de 15 cepas bacterianas que garantizaron la labor del laboratorio de control de la calidad de dicho departamento. Pero no es hasta 1989, que esta colección de tipo institucional² incrementa sus cultivos a un nivel considerable y comienza a ofertarlos como materiales de referencia al resto de los laboratorios microbiológicos del país. A mediados de 1995, la CCINHEM se integra al Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos de Cuba como una de las colecciones pioneras de esta agrupación, vínculo que aún se mantiene activo. Las experiencias de trabajo acumuladas, logros alcanzados y desafíos futuros son los criterios a exponer en este trabajo.

Colección de cultivos del INHEM

La función principal de un servicio de colecciones de cultivo es la de actuar como depositarios para todos los microorganismos que tienen importancia potencial, presente o pasada.³ La colección de cultivos del INHEM atesora 290 cepas bacterianas de diversos orígenes (tabla 1) donde se destacan los microorganismos de la familia Enterobacteriaceae, que representan el 50,69 % de las cepas existentes en la colección.

En la figura 1 se aprecia la distribución por géneros de los microorganismos miembros de esta familia según la clasificación taxonómica vigente del Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 4, donde el mayor porcentaje corresponde a las especies del género *Salmonella* sp (43 %).

Tabla 1. Microorganismos presentes en la CCINHEM; INHEM, 2001

Familias Microbianas	Procedencia/cantidad					Total
	INHEM	INHA	IHE	CPZ	Otras fuentes	
Aeromonaceae	3	10	6			19
Alcaligenaceae	1		1		1	3
Bacillaceae	3		3		1	7
Clostridiaceae		6	7			13
Enterobacteriaceae	59	2	57	3	26	147
Moraxellae					1	1
Listereaceae		1				1
Pseudomonaceae	33		6	1	1	41
Staphylococcaceae	1			1	5	7
Streptococcaceae	2		1		3	6
Vibrionaceae	3	40				43
Subtotal	105	59	81	5	38	288
Moniliaceae	1				1	2
Total	106	59	81	5	39	290

Leyenda:

INHEM: Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Cuba.

INHA: Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos, Cuba.

IHE: Instituto de Higiene de Praga, Chechoslovak.

CPZ: Centro Panamericano de Zoonosis, Argentina.

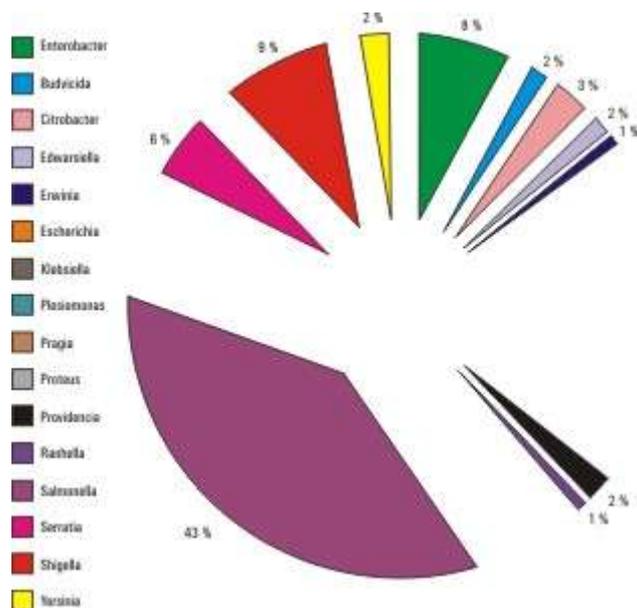


FIG. 1. Distribución de los microorganismos por géneros.

Funciones

Múltiples son las tareas que se realizan en un laboratorio de colección microbiana, pero todas tienen como función primaria la colección, el mantenimiento y el suministro de cultivos, así como la custodia de la documentación asociada a ellos³ y la adquisición de nuevas especies. Además de estas funciones, en la CCINHEM se promueve la formación del personal científico - técnico, se realiza la identificación y caracterización de bacterias procedentes de aislamientos ambientales y se contribuye al desarrollo de proyectos de investigación en el área de la microbiología ambiental.

De todos es conocido que el personal es el factor más importante en la calidad del trabajo en un laboratorio de microbiología⁵ y que en los laboratorios de colecciones de cultivos se labora arduamente. Por esa razón, la CCINHEM desarrolla un intenso trabajo en la capacitación de su personal, además de participar en la formación de otros especialistas, para garantizar su profesionalidad y calificación. La tabla 2 ilustra los resultados sobre el trabajo desarrollado en este aspecto. En la actualidad el staff que integra la CCINHEM está compuesto por un profesional y un técnico de nivel medio, bajo la asesoría de un médico especialista en Microbiología.

Tabla 2. Formación de recursos humanos en CCINHEM. INHEM, 2001.

	Actividad docente		Nivel del personal capacitado	
	Cursos impartidos	Cursos recibidos	Técnicos	Profesionales
Años				
1985-1990	2	3	2	-

1991-1996	-	3	2	1
1997-2001	3	3	4	4
Subtotal	5	9	8	5
Total	14		13	

Con frecuencia, los microorganismos requieren métodos especiales de preservación que aseguren su óptima viabilidad, almacenamiento, pureza y estabilidad.⁶ La conservación de los cultivos que integran la CCINHEM se ha realizado considerando dos niveles: el primario o base y el secundario o de trabajo.

En el primero de los niveles, son mantenidos los cultivos stock a partir de los cuales se derivaron el resto de los bancos de trabajo; en él los microorganismos están preservados por el método de Liofilización^{1-3,7,8} mientras que en el nivel secundario son conservados los microorganismos que conforman los cultivos semistock y de trabajo diario, los cuales son mantenidos en medio semisólido de conservación, subcultivo en parafina y cuñas de agar inclinados.^{1,2,5,7} Estos niveles y métodos de conservación garantizan la disponibilidad de las cepas bacterianas que son ofertadas como microorganismos tipo por la colección, cumplimentando los requisitos de los patrones de referencia en Microbiología.⁹

Sistema de calidad

Con vista a garantizar la calidad del trabajo que se realiza en la CCINHEM, fueron adoptados los principios de las normas cubanas NC/ISO/IEC 2510 y NC 26-21211 con el implemento de un sistema de calidad que estuviera acorde con la estructura y necesidades del laboratorio, así como que fuera capaz de demostrar su competencia ante los clientes. La evidencia documental que soporta el funcionamiento del sistema comprende un manual de procedimientos (anexo I) y registros (anexo II), documentos cuya actualización y revisión involucra a todo el equipo que labora en la colección.

Como parte integrante de los laboratorios de Microbiología Sanitaria del INHEM, la colección opera de acuerdo con las regulaciones vigentes de bioseguridad tanto institucionales como nacionales, pues en la CCINHEM son manipulados agentes biológicos del grupo de riesgo II.¹² A la vez, esto se corresponde con lo estipulado por la World Federation of Culture Collection, órgano regulatorio internacional para el trabajo de colecciones de cultivos microbianos, el cual enuncia que los aspectos de seguridad de todas las operaciones que han de realizarse en las colecciones necesitan ser controladas cuidadosamente con respecto, no solo a las regulaciones de seguridad y salud nacionales, sino también con las buenas prácticas de laboratorio.⁶

Suministro de cepas

La distribución de material biológico es uno de los servicios científico - técnicos más sólidos que ofrece la CCINHEM. A través de él, se adquieren cepas bacterianas de

interés para este centro, por intercambio con otras instituciones o como parte de aislamientos realizados por los laboratorios del departamento de Microbiología Sanitaria, y se suministran gratuitamente las cepas tipo existentes en esta colección, para el control de la calidad de los medios de cultivos y reactivos de otros laboratorios del sistema nacional de salud o de otros organismos.

La figura 2 ilustra el comportamiento del suministro de cepas microbianas procedentes de la colección, ofertadas como cultivos tipo desde los inicios de la CCINHEM hasta el año 2001. Por su parte, la figura 3 muestra cómo ha variado la cantidad de clientes que acceden a la colección por concepto de adquisición de cepas para igual período de tiempo, lo que evidencia un incremento sustancial por este concepto, que indica la calidad del trabajo que se desarrolla en la CCINHEM y la competencia de nuestra colección ante los clientes que acceden a ella.

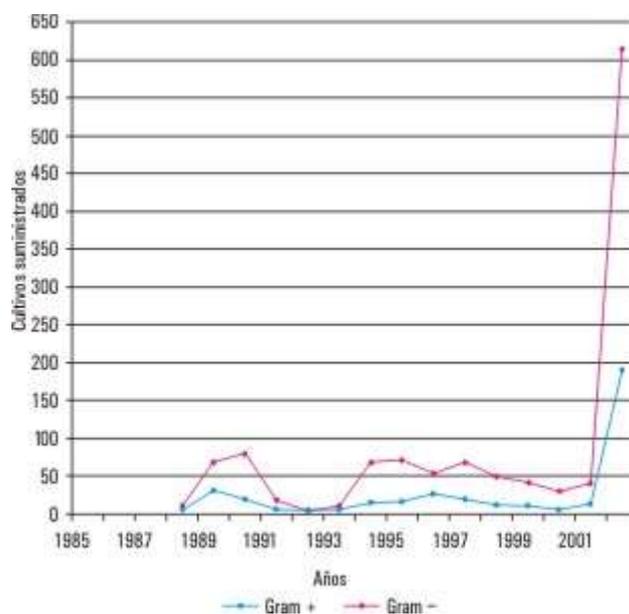


FIG. 2. Comportamiento del suministro de cepas microbianas, de la colección del CCINHEM, hasta el año 2001.

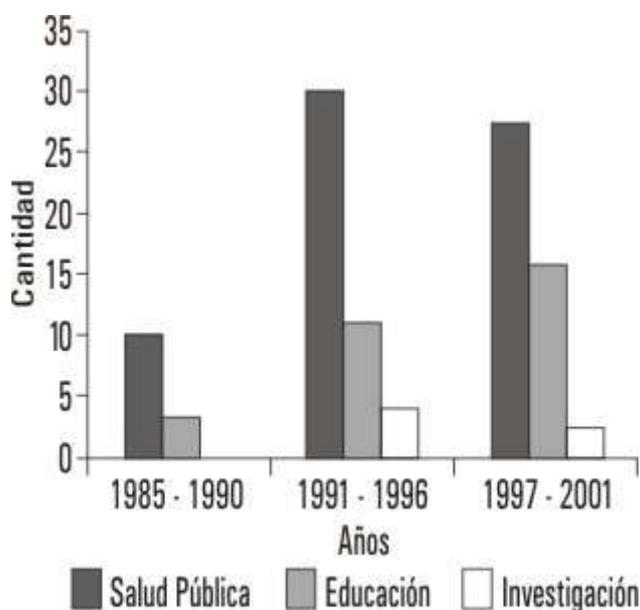


FIG. 3. Variación de la cantidad de clientes que acceden a la colección.

Desafíos

Como retos a corto, mediano y largo plazo están:

- El incremento en el número de especies microbianas que conforman la colección.
- Continuar con la capacitación del personal del laboratorio y contribuir a la formación de personal técnico y profesional de otras instituciones.
- Implementar métodos alternativos de bajo costo para la conservación de cultivos.
- Diversificar los servicios científico - técnicos que oferta la CCINHEM.
- Completar la caracterización de las cepas de la colección (características genotípicas) con vista a lograr que sean consideradas como patrones secundarios de referencia en el ámbito nacional.

Se concluye que durante sus 16 años de existencia, la CCINHEM ha desarrollado un trabajo arduo que permitió el implemento de un sistema de calidad acorde con los esquemas de acreditación vigentes, la capacitación de personal técnico y profesional; así como mantener la vinculación al grupo nacional de colecciones de cultivos de Cuba como miembro activo.

Anexo I. Manual de procedimientos de la CCINHEM

Código	Procedimientos
DSC.CCM.02.01	Para el trabajo con cultivos microbianos liofilizados.
DSC.CCM.02.02	Para la introducción de nuevos cultivos microbianos.
DSC.CCM.02.03	Para la distribución de material biológico.
DSC.CCM.02.04	Para la conservación y mantenimiento de cepas.
DSC.CCM.02.05	Para la limpieza y la desinfección.

Anexo II. Registros de la CCINHEM

Código	Registros
DSC.CCM.03.01	De control de calidad ambiental.
DSC.CCM.03.02	De control interno de la entrega de cepas.
DSC.CCM.03.03	De control de la limpieza y fregado de la cristalería.

DSC.CCM.03.04	De cristalería y medios de medición.
DSC.CCM.03.05	De entrada de cepas.
DSC.CCM.03.06	De equipos.
DSC.CCM.03.07	De incidencias.
DSC.CCM.03.08	De inventario de cepas.
DSC.CCM.03.09	De medios básicos.
DSC.CCM.03.10	De personal.
DSC.CCM.03.11	De reactivos y medios de cultivo.
DSC.CCM.03.12	De reactivos preparados en el laboratorio.
DSC.CCM.03.13	De solicitud y entrega de cepas.
DSC.CCM.03.14	De solicitud de medios de cultivos.
DSC.CCM.03.15	De uso de equipos.
DSC.CCM.03.16	De control del movimiento de cepas liofilizadas.

Summary

The collection of microbial cultures of the National Institute of Hygiene, Epidemiology and Microbiology of Cuba (NIHEM) with more than 10 years of existence has had a fundamental mission the provision of type microorganisms for the quality control of the culture media and reagents produced in the institution that are utilized in the microbiological control of environmental samples. Since the mid-80's, a gradual development has conditioned its diversification as regards functions, bacterial species and scientific and technical services. The maintenance of 290 viable bacterial strains, the establishment of a quality system according to the criteria of the standing accrediting systems, and the external supply of microorganisms as reference material have been the most significant achievements.

Subject headings: LABORATORIES/standards; ENTEROBACTERIACEAE/isolation and purification; CULTURE MEDIA; QUALITY CONTROL.

Referencias bibliográficas

1. Castro G, Hernández JT, Aquino C. Manual sobre conservación bacteriana. México: Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas; 2000; 21.

2. Smith D, Green P, Day G. Management and maintenance of culture collections. 1ed. Egham: UKFCC; 2000;22.
3. Kirsop BE. Service collections: their functions. En Kirsop BE & Doyle A, eds. Maintenance of microorganisms and cultured cells. A manual of laboratory methods. 2 ed. London: Academic Press;1991;5-20.
4. Garrity GM, Winters M, Searles DB. Taxonomic outline of the prokaryotic genera. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2 ed. New York: Springer Verlag; 2001;13-14.
5. Caballero E. El Cepario. En: Caballero E. Manual de control de calidad en microbiología clínica. Panamá: Universidad de Panamá;1998. Disponible en: [www.monografias.com/\[STANDARDIZEDENDPARAG\]](http://www.monografias.com/STANDARDIZEDENDPARAG)
6. Hawksworth DL, Sastramihardja I, Kokke R, Stevenson R. Guidelines for the establishment and operation of collections of cultures of microorganisms. 2 ed. World Federation of Culture Collection Standard Committee. UK: Simwoth Press; 1999;16.
7. García MD, Uruburu F. La conservación de cepas microbianas. Act SEM 2000;30:1-8.
8. Rudge RH. Maintenance of bacteria by freeze-drying. En: Kirsop BE & Doyle A, eds. Maintenance of microorganisms and cultured cell. A Manual of Laboratory Methods. 2 ed. London: Academic Press;1991;31-50.
9. Uruburu F. La Sociedad Española de Microbiología y el aseguramiento de la calidad. Act SEM 1999;28:12-3.
10. Instituto de Investigaciones y Normalización. NC/ISO/IEC 25-43 Requisitos generales para la competencia técnica de los laboratorios de calibración y ensayo. La Habana: Comité Estatal de Normalización;1992:20[STANDARDIZEDENDPARAG]
11. Ministerio de Salud Pública. NC 26-212 Buenas prácticas de laboratorio. La Habana: Comité Estatal de Normalización; 1992:20.
12. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Resolución No. 42/99 Listado de agentes biológicos. Ciudad de La Habana: CITMA,1999;10.

Recibido: 12 de agosto de 2003. Aprobado: 18 de octubre de 2003.

Lic. *Zulia Weng Alemán*. Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM). Infanta 1158 e/ Llinás y Clavel, Centro Habana, CP 10300, Ciudad de La Habana, Cuba. E-mail: weng@infomed.sld.cu

[1 Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Aspirante a investigadora.](#)

[2 Médica Especialista en Microbiología. Investigadora y Profesora Auxiliar.](#)

[3 Técnica A en Laboratorio Sanitario.](#)