# Actividad in vitro del OLEOZON frente a agentes etiológicos de infecciones en la piel

Irene Lezcano, Jesús Molerio, Magaly Gómez, Rolando Contreras, \* Gloria Roura\* y Wilfredo Díaz.

Centro de Investigaciones del Ozono, Avenida 15 y 230, No. 1313, Apartado Postal 6880, Playa, \*Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 25 de noviembre de 1997. Aceptado: 20 de diciembre de 1997.

Palabras clave: prueba de susceptibilidad, OLEOZON, infección piógenas, Staphylococcus aureus y Streptococcus pyogenes. Key words: susceptibility test, pyogenic infection, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, OLEOZON.

RESUMEN Las infecciones piógenas de la piel son producidas en un 90 % por Staphylococcus aureus y Streptococcus pyogenes; otros organismos que pueden participar como agentes secundarios son Pseudomonas a eruginosa y Escherichia coli. El OLEOZON posee actividad antimicrobiana contra diferentes microorganismos. En el presente estudio se examinó la actividad antibacteriana del OLEOZON frente a aislamientos clínicos de Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa y Escherichia coli, así como frente a las cepas patrones Staphylococcus aureus ATCC 29213, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 y Escherichia coli ATCC 25922. Se determinaron las Concentraciones Mínimas Inhibidoras y las Concentraciones Mínimas Bactericidas mediante las técnicas de dilución en agar y macrodilución, según NCCLS (1992 y 1993). También se realizaron estudios de bioactividad por microcalorimetría. Los resultados muestran la potente actividad antimicrobiana del OLEOZON frente a las especies bacterianas analizadas; lo que permite recomendar la realización de otras investigaciones para establecer la dosis efectiva y el proceso terapéutico adecuado para el tratamiento de esta patología.

ABSTRACT. Pyogenic skin infection are produced in 90 % of cases by Staphylococcus aureus and Streptococcus pyogenes; Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli can participate as secondary agents. OLEOZON has antimicrobial effects against different microorganisms. In the present study, the antibacterial activity of OLEOZON against Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli clinical isolates and Staphylococcus aureus ATCC 29213, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 and Escherichia coli ATCC 25922 was examined. Susceptibility tests, Minimal Inhibitory Concentration and Minimal Bactericidal Concentration, were performed by agar dilution and macrodilution techniques based on NCCLS 1992, 1993; as well as bioactivity tests by microcalorimetry technique were performed. The results showed the powerful antimicrobial activity of OLEOZON against the bacterial strains analyzed in this study. It made possible to recommend other experiments in order to establish the effective dose and the appropiate therapeutical procedure for this disease.

### INTRODUCCION

Las piodermitis son enfermedades comunes, ocasionadas en un 90 % por Staphylococcus aureus y Streptococcus β-hemolítico del grupo A de Lancefield, o por la combinación de ambos y cuyas manifestaciones clínicas se expresan en forma de áreas inflamatorias asociadas o no a dolor, tumefacción, exudación, vesículas, costras o ulceraciones cutáneas.

Otros gérmenes que en menor grado pueden estar vinculados con esta patología son Pseudomonas a eruginosa y Escherichia coli...<sup>12</sup> Para el control y la eliminación de los agentes etiológicos de la enfermedad, se han utilizado variados procedimientos terapéuticos, entre los que se incluye el empleo de antibióticos de amplio espectro por vía sistémica y local.<sup>2</sup> El aceite de girasol ozonizado (OLEOZON) posee actividad antimicrobiana demostrada en diferentes trabajos.<sup>3,4</sup> Investigaciones recientes puntualizan las Concentraciones Mínimas Inhibitorias del OLEOZON frente a especies bacterianas como Escherichia coli, Streptococcus agalactiae, Streptococcus uberis y Stahylococcus aureus, cepas patrones y aislamientos clínicos animales,<sup>5</sup> así como para especies de dermatofitos patógenos al hombre.<sup>6</sup>

Por otra parte, este producto ha pasado satisfactoriamente las pruebas preclínicas de irritabilidad dérmica aguda,<sup>7,8</sup> ensayos de mutagenicidad<sup>9</sup> y teratogénicidad,<sup>10</sup> lo que garantiza su inocuidad. Estos resultados, unidos a la efectividad obtenida en estudios clínicos preliminares,<sup>11,12</sup> evidencian el posible empleo del OLEOZON como sustancia antimicrobiana útil en el tratamiento de esta patología.

Este trabajo tuvo como objetivo estudiar la sensibilidad de especies bacterianas, agentes etiológicos de la piodermitis, frente al OLEOZON.

### MATERIALES Y METODOS

Se emplearon 20 cepas de Streptococcus pyogenes β-hemolítico pertenecientes al Grupo A de Lancefield, 21 de Staphylococcus aureus, 15 de Pseudomonas aeruginosa y 10 de Escherichia coli, todos aislamientos clínicos recientes, realizados en el Hospital Militar "C.J. Finlay". Además, las cepas patrones Staphylococcus aureus ATCC 29213, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 y Escherichia coli ATCC 25922.

Se utilizó aceite de girasol ozonizado, OLEOZON, con un índice de peróxidos de 655. Se analizaron las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) y las Concentraciones Mínimas Bactericidas (CMB) para todos los organismos descritos con anterioridad.

Para la determinación de las CMI, se seleccionó la técnica de dilución en agar mediante metodología establecida.13 Los cultivos crecieron en Agar Triptona-Soya por 24 h a 37 °C. Algunas de estas colonias fueron transferidas a caldo Müeller-Hinton e incubadas de 3 a 5 h para obtener una turbidez igual a 0,5 en la escala de McFarland. Un mililitro de esta suspensión, se adicionó a 19 mL del mismo caldo y se realizó el control de inóculo. El medio de cultivo para Streptococcus fue suplementado con 5 % de sangre de carnero. Se inocularon 2 µL de cada inóculo en placas Petri que contenían Agar Müeller-Hinton con determinadas concentraciones de aceite de girasol ozonizado y emulsionante (Tween 80). Fueron realizadas 25 réplicas para cada microorganismo y para cada concentración de aceite ozonizado analizada. Se tuvieron en cuenta dos tipos de Controles: el primero con medio de cultivo solamente y el segundo con medio de cultivo, aceite de girasol natural y emulsionante (Tween-80), estas últimas sustancias en las mayores proporciones utilizadas. La incubación fue de 24 h a 37 °C

Las CMB se determinaron según metodología establecida.  $^{14}$  Los inóculos se obtuvieron a partir del crecimiento en Agar Triptona Soya a  $37\,^{\circ}\mathrm{C}$  por  $24\,\mathrm{h}$ . Se adicionaron de 5 a  $30\,\mathrm{colonias}$ , según el cultivo, en  $5\,\mathrm{mL}$  de caldo Müeller-Hinton y se incubó en zaranda a  $37\,^{\circ}\mathrm{C}$ , durante  $5\,\mathrm{h}$ . Después de este tiempo, se ajustó la turbidez hasta lograr una concentración de  $10^5\,\mathrm{a}$   $10^6\,\mathrm{unidades}$  formadoras de colonias (UFC)/mL .

En una primera fase, se realizó la técnica de macrodilución, utilizando como Controles los crecimientos microbianos en caldo Müeller-Hinton y en el medio de cultivo al que se adicionó aceite de girasol natural con la cantidad requerida del emulsionante. La incubación fue de 24 h a 37 °C. Después se realizó la siembra de 0.1 mL de la mezcla inóculo -OLEOZON en Agar Triptona Soya para comprobar la presencia de crecimiento bacteriano. Después de 24 h de incubación a 37 °C, se efectuó el conteo de colonias. Se consideró como Concentración Mínima Bactericida la menor concentración de OLEOZON con la que no se obtuvo crecimiento bacteriano alguno. Para cada organismo se realizaron cinco réplicas.

Por otra parte, para el control de la calidad de las técnicas, se utilizaron las cepas patrones Staphylococcus aureus ATCC 29213 y Escherichia coli ATCC 25922 y como antibiótico la kanamicina; se procedió según la misma metodología empleada en la investigación.  $^{13,14}$  Se realizó el control de inóculo inicial, que fue de  $6,9\cdot10^6$  UFC/mL y el control final de  $8,3\cdot10^6$  UFC/mL. Las CMI y CMB estuvieron en el intervalo establecido.

El estudio de bioactividad se realizó mediante un microcalorímetro, modelo 2277 (LKB), a una velocidad del registrador de 0,1 mm/min y una amplificación<sup>15</sup> de 1 000 mW . Las cepas analizadas fueron Staphylococcus aureus ATCC 29213 y un aislamiento clínico de las especies Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa. Se probaron dos concentraciones diferentes del OLEOZON (950 y 475 mg/mL), así como un Control con aceite natural y otro con medio de cultivo solamente. La duración del análisis fue de 24 h.

En el procesamiento estadístico de los resultados se utilizaron métodos automatizados, mediante los que se determinaron valores medios y desviaciones estándar y se llevaron a cabo análisis de varianzas y pruebas de Fisher y de Duncan.

### RESULTADOS Y DISCUSION

Un primer análisis permitió definir que el aceite de girasol ozonizado tiene efecto, in vitro, sobre los agentes etiológicos de la piodermitis (Tabla 1); las CMI se encontraron entre 4,75 y 9,5 mg/mL, lo que sugiere la posibilidad de utilizar este producto en concentraciones menores a las empleadas hasta el momento; 11,12 esto sería posible mediante la realización de nuevos estudios, que basados en los resultados de las pruebas de sensibilidad in vitro, permitieran definir la dosis efectiva in vivo y el procedimiento terapéutico adecuado para lograr un óptimo resultado.

No se encontraron diferencias significativas ( $p \le 0.05$ ) entre los aislamientos clínicos y la cepas patrones, tampoco se encontraron diferencias significativas ( $p \le 0.05$ ) entre las CMI para todas las especies estudiadas. En investigaciones anteriores, 5-6 se pudo conocer que el OLEOZON, con índice de peróxidos entre 600 y 700, fue capaz de producir la inhibición del crecimiento en especies bacterianas tales como Escherichia coli, Streptococcus a galactiae, Streptococcus uberis y Staphylococcus aureus, así como en hongos productores de epidermofitosis, en concentraciones similares a las obtenidas en este estudio.

En cuanto a la actividad bactericida del OLEOZON, los resultados fueron similares para todas las cepas analizadas sin distinción entre especies y sin diferencias significativas (p  $\leq$  0,05) entre cepas patrones y aislamientos clínicos. Las CMB estuvieron en el intervalo de 237 a 475 mg/mL (Tabla 2), lo que indica que concentraciones iguales o superiores a 475 mg/mL de OLEOZON, no sólo puede producir la inhibición en el crecimiento bacteriano, sino también, la muerte de estos microorganismos.

 ${\bf T}ab\, la\, 1.$  Sensibilidad al OLEOZON de cepas productoras de piodermitis. Concentración Mínima Inhibitoria.

Especies bacterianas (No.) <sup>b</sup>	Intervalo	50 % <sup>a</sup> (mg/mL)	90 % <sup>a</sup>
Staphylococcus aureus (21)	4,75-9,5	4,75	9,5
Staphylococcus aureus ATCC 29213	9,5		
Streptococcus pyogenes (20))	4,75 - 9,5	9,5	9,5
Pseudomonas aeruginosa (15)	4,75 - 9,5	4,75	9,5
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	4,75		
Escherichia coli (10)	4,75 - 9,5	4,75	9,5
Escherichia coli ATCC 25922	4,75		

 $<sup>^{\</sup>rm a}$  CMI para el 50 y el 90 % de las cepas analizadas.

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> Crecimiento en los Controles: positivo.

La interpretación de los resultados derivados de la determinación de las CMB es una tarea compleja, además de ser necesaria una ejecución técnica adecuada; en la medición de la muerte microbiana in vitro pueden interferir factores biológicos tales como: tolerancia, efecto paradoxical o persistencia. 14 En este caso en que las CMB resultaron más de 20 veces superiores a las CMI, se sugiere realizar una investigación más detallada que permita explicar esta diferencia, lo que propiciaría obtener un conocimiento mayor de las características del medicamento.

Tabla 2. Concentraciones Mínimas Bactericidas.

Especies bacterianas (No.) <sup>b</sup>	Intervalo	50 % <sup>a</sup> (mg/mL)	90 % <sup>a</sup>
Staphylococcus aureus (21)	475	475	475
Staphylococcus aureus ATCC 29213	475		
Streptococcus pyogenes (20)	237 - 475	237	475
Pseudomonas aeruginosa (15)	237 - 475	237	475
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	475		
Escherichia coli (10)	237 - 475	237	475
Escherichia coli ATCC 25922	475		

 $<sup>^{\</sup>mathrm{a}}$  CMI para el 50 y el 90 % de las cepas analizadas.

Tabla 3. Resultados de los estudios de bioactividad por calorimetría.

Especies bacterianas	Condiciones	Altura máxima (mW)	Tiempo altura máxima (h)	Area bajo la curva (A . min)
	Medio de cultivo	200	1,60	71,55
Staphylococcus aureus	Aceite natural	210	5,00	192,72
ATCC 29213	$950~mg~/mL^a$	21	4,16	9,12
	$475 mg/mL^a$	-30	_	_
	Medio de cultivo	180	1,30	80,50
Stanbulanana aumana	Aceite natural	120	13,3	264,62
Staphylococcus aureus	Medio de cultivo       200       1,60         Aceite natural       210       5,00         950 mg /mLa       21       4,16         475 mg/mLa       -30       —         Medio de cultivo       180       1,30         Aceite natural       120       13,3         950 mg /mLa       0       0         475 mg/mLa       -20       —         Medio de cultivo       320       6,66         Aceite natural       120       5,00         950 mg /mLa       -60       —         475 mg/mLa       0       —         Medio de cultivo       880       4,83         Aceite natural       315       8,30	0		
	$475 \text{ mg/mL}^{\text{a}}$	-20	_	_
	Medio de cultivo	320	6,66	160,4
Standard	Aceite natural	120	5,00	12,8
Streptococcus pyogenes	$950~mg/mL^a$	-60	_	_
	475 mg/mL <sup>a</sup>	0	_	_
	Medio de cultivo	880	4,83	2 380,2
D	Aceite natural	315	8,30	1 080,8
Pseudomonas aeruginosa	$950~mg/mL^a$	-30	_	_
	475 mg/mL <sup>a</sup>	30	0,08	24,57
	Medio de cultivo	260	2,66	204,62
Escherichia coli	Aceite natural	130	2,66 204,	129,08
	$950~mg~/mL^a$	0	_	_
	475 mg/mL <sup>a</sup>	40	0	43,7

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> miligramos de OLEOZON/mililitro.

Aunque los valores encontrados para ambos índices, CMI y CMB, están en el orden de los miligramos/mililitro, es bueno señalar que el OLEOZON es una mezcla de compuestos químicos cuya actividad biológica aislada se está investigando en estos momentos. Estos resultados evidencian la necesidad de establecer no sólo los componentes responsables de la actividad antibacteriana, sino además, las concentraciones en que son capaces de ejercer su acción.

En los estudios de bioactividad no se observaron indicios de crecimiento microbiano con la aplicación de 950 y 475 mg de OLEOZON/mL de medio de cultivo (Tabla 3), lo que corrobora los resultados obtenidos mediante los métodos de dilución aplicados. Por otra parte, fue visible el crecimiento microbiano en las muestras controles. Las cepas de Staphylococcus aureus, tuvieron mayor crecimiento en presencia del aceite natural que con el medio de cultivo, al parecer el aceite de girasol fue utilizado como sustrato, lo que destaca la acción antimicrobiana del OLEOZON que logró la inactivación de esos organismos.

### CONCLUSIONES

El OLEOZON es un producto activo frente a especies bacterianas responsables de la piodermitis. La sensibilidad de estos organismos, mostrada en pruebas in vitro, indica que es posible su empleo en el tratamiento de esta enfermedad, teniendo en cuenta que las CMI correspondientes, se encuentran en el intervalo de 4,75 a 9,5 mg/mL.

El OLEOZON se comporta como un agente bactericida, capaz de producir la muerte microbiana a las cepas analizadas en este trabajo, con CMB en el intervalo de 237 a 475 mg/mL.

Estos resultados unidos a la inocuidad del producto, permiten sugerir la realización de pruebas in vivo para establecer las dosis y procedimientos terapéuticos adecuados para el tratamiento de esta patología.

### **AGRADECIMIENTOS**

Al personal del Dpto. de Bacteriología del Hospital "C.J. Finlay por el aislamiento e identificación de los cultivos clínicos utilizados en este trabajo.

### BIBLI **C**GRAFIA

1. Fernández-Hernández Baquero. Grupo de Dermatología. Ed. Científico Técnica, 249-256, Cuba, 1986.

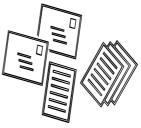
<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> Crecimiento en los Controles: positivo.

- Falabella R., Escobar C .E. y Giraldo N. Fundamentos de Medicina. Dermatología Corporación para Inv. Biológicas, CIB, 20-24, Colombia, 1993.
- 3. Menéndez S., Grillo R., Flacón L., Daniel R. y Díaz W. Onicomycosis treated with ozonized oil. Proceedings Ozone in Medicine. XII Congress of International Ozone Association, 3, 279-282, Lille, France, 1995.
- 4. Contreras O.R., Gómez M., Menéndez S., Molerio J., Roura G., Fernández D. y Eng L. Efecto de la sustitución del aceite de oliva por aceite de girasol en la actividad antimicrobiana del aceite ozonizado. Revista CENC Ciencias Químicas, 120, 121, 1989.
- 5. Lezcano I., Nuñez N., Molerio J. y Regüeiferos M.G. Actividad in vitro del aceite de girasol ozonizado frente a diferentes especies microbianas. Revista CENC Ciencias Biologícas, 27, 46, 1996.
- 6. Rodríguez M. Guerra M. Molerio J. García M. y Díaz W. Actividad in vitro del OLEOZON pinceladas II Conferencia de Aplicaciones del Ozono. XII

- Seminario Científico, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Cuba. 1995.
- 7. León O.S. Informe final Protocolo 04/93. Ensayo de toxicidad dérmica aguda del aceite ozonizado, OLEO-ZÓN. Evaluación en ratas. Centro de Investigaciones y Evaluaciones Biológicas, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, 1995.
- 8. León O.S. Informe final Protocolo 04/93. Ensayo de toxicidad dérmica aguda del aceite ozonizado, Oleozón. Evaluación en conejos Centro de Investigaciones y Evaluaciones Biológicas, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, 1995.
- 9. Fernández I., Menéndez S. y Gómez M. Evaluación mutagénica del aceite ozonizado administrado intragástricamente. Revista CENC Ciencias Biológicas, 20, 14, 1989.
- Rodríguez M D. Menéndez S. y Gómez M. Estudio te,ratogénico del aceite ozonizado. Primer Congreso

- Iberolatinoamericano de Aplicaciones del Ozono. Centro Nacionalde Investigaciones Científicas-Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas, 1990.
- 11. De las Cajigas T., Bastard U., Menéndez S., Gómez M. y Eng L. El aceite ozonizado en infecciones de la piel y su aplicación en el sistema del médico de la familia. Revista CENC Ciencias Biológicas, 20, 81, 1989.
- Simón R. y Garbayo Y .E. Aceite ozonizado OLEOZON en la piodermitis. Revista CENC, 26, No. Especial, 106, 1995.
- 13. NCCLS. M7-A3. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically-third edition. Approved Standard, 13, 25, 1993.
- 14. NCCLS M26-T. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents, 12, 19, 1992.
- 15. LKB 2277. BioActivity Monitor. Seminar Notes, Ed. LKB BROMMA, 11-33, 1985.

### De nuestros lectores



# Reporte del Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos Microbianos (1997)

Gladys Pérez de la Fuente, Elsie Iglesias Pérez y Fernando Travieso Ruiz.

Las colecciones de cultivos microbianos constituyen el mecanismo por el cual la diversidad microbiana es asegurada, asequible al hombre para su estudio y explotación, y mediante el cual se provee un recurso mundial genéticamente estable para el futuro.

La idea de establecer las colecciones de cultivos microbianos surgió en los años 1880-1890. Fue en esta época cuando se desarrollaron los medios de cultivo sólidos para el crecimiento de los microorganismos. Los microbiólogos tuvieron éxito en los primeros aislamientos de cultivos puros y esto señaló la necesidad de preservarlos para trabajos futuros. En aquel tiempo, se establecieron varias colecciones de microorganismos en los mayores institutos de microbiología de París, Berlín, Londres y Japón, lamentablemente existen muy pocos documentos al respecto 1

Hoy día, pocos microbiólogos conocen que uma de las primeras colecciones de cultivos microbianos se estableció en Praga en 1890 por el Profesor Frantisek Kral (1846-1911). Esta colección fue denominada "Kral'sche Sammlung von Microorganismen" y estuvo en existencia durante 21 años. Algunos materiales pertenecientes a esta colección están conservados en el Museo de Historia Natural en Viena. En 1900, Kral publicó el primer catálogo de cultivos microbianos, hecho de gran importancia para la historia de la microbiología.<sup>2</sup>

Otra de las colecciones más antiguas fue establecida en 1906 en el Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) por la Asociación Internacional de Botánicos, la cual aún existe en Baam, Holanda. El curso histórico de las colecciones de microorganismos fue descrito por Porter en 1976.<sup>3</sup> En 1994, se reportó la existencia de 484 colecciones de 58 países registradas en el World Data Center for Microorganisms (WDCM), en Rinken, Japón.<sup>4</sup> La interacción y colaboración entre los coleccionistas está creciendo rápidamente, gracias al establecimiento de organizaciones mundiales, regionales y nacionales que con sus múltiples actividades contribuyen al desarrollo de las colecciones.<sup>5,6,7</sup>

En Cuba, a pesar de que el papel de las colecciones de cultivos microbianos no es aún bien reconocido, éstas se han establecido en más de 40 instituciones del país. Para lograr un desarrollo de las colecciones cubanas, desde finales de 1995 comienza a organizarse el Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos Microbianos: vehículo ideal para facilitar los estudios de biodiversidad, definir nuevas líneas de trabajo y aplicar a nivel de los microorganismos los acuerdos de la Convención de la Diversidad Biológica.<sup>8</sup>

GRUPO NACIONAL DE COLECCIONES DE CULTIVOS MICROBIANOS

El Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos Microbianos cuenta con un Comité Gestor y está integrado de manera voluntaria por científicos de 43 instituciones que trabajan directamente con colecciones de cultivos microbianos, líneas celulares u otros materiales biológicos; por representantes del Centro Nacional de Seguridad Biológica, así como por otros especialistas interesados en la materia. El grupo se reúne trimestralmente y propone cada vez un plan de acción con la finalidad de lograr el desarrollo de las colecciones cubanas de cultivos microbianos y su organización nacional.

### **OBJETIVOS DEL GRUPO**

- Lograr la unión efectiva entre personas y organizaciones comprometidas e interesadas en las colecciones de cultivos y entre ellas y los usuarios.
- Fomentar el estudio de técnicas y procedimientos para el aislamiento, el cultivo, la caracterización, la conservación y la distribución de microorganismos y publicar los procedimientos para promover la instrucción del personal en el manejo de colecciones de cultivos.
- Promover el establecimiento de una red de servicios de datos comprometidos con la localización de la información acerca de los materiales biológicos mantenidos en las colecciones de cultivos y publicar la información derivada en forma de Directorio Nacional de Colecciones, así como otros documentos relacionados con esta actividad.
- Promover el establecimiento de colecciones de cultivos, de referencia y de servicios de identificación y desarrollar las ya existentes.
- 5. Procurar soluciones a los problemas de distribución de cultivos microbianos que puedan surgir, a través de las regulaciones postales, reglas de garantías, leyes de patentes, de salud pública y otros factores de importancia nacional.
- 6. Perpetuar las colecciones de cultivos importantes.
- Establecer comunicación oficial entre los coleccionistas de cultivo, su personal, sus usuarios y organizaciones afines.
- Organizar diferentes foros científico-técnicos sobre tópicos y problemas de interés común.

El Grupo ha realizado importantes actividades dentro de las que se destacan: el Primer Taller Sobre Colecciones de Cultivos en octubre de 1996, en el Centro de Investigación-Producción de Vacunas y Sueros, Instituto Finlay<sup>8</sup> y el Primer Curso Sobre Colecciones de Cultivos Microbianos desarrollado en 1997 en el Centro Nacional de Biopreparados.

En el Instituto de Oceanología se ofrece un Servicio permanente de Información Científica a los miembros del Grupo y a otros interesados acerca de lo que acontece en el ámbito internacional en materia de colecciones de microorganismos. Además, en él se registran datos generales sobre las cepas conservadas, las esferas de interés y otros aspectos relacionados con las colecciones cubanas de microorganismos con vistas al desarrollo de Directorios de Información de las Cepas Nacionales.

## COLECCIONES CUBANAS DE CULTIVOS MICROBIANOS

A pesar de que al Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos Microbianos y otros materiales biológicos se han incorporado representantes de 43 instituciones del país vinculadas al trabajo con las colecciones, se ha registrado información sólo de 21 de éstas (Tablas 1 y 2). Por este motivo, es necesario que todas las instituciones que posean colecciones cooperen con el Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos Microbianos para el registro de la información procedente de ellas y llegar a conocer cuáles recursos genéticos microbianos están representados en las colecciones cubanas, entre otros aspectos, para el desarrollo de estrategias de trabajo futuro.

Como resultado de encuestas realizadas a los responsables de las colecciones en las reuniones de trabajo del grupo, se han identificado algunos problemas comunes a la mayoría, entre los cuales se pueden citar no disponibilidad de un local destinado exclusivamente para la colección, falta de recursos materiales y equipos necesarios para el desempeño de las activi-

Tabla 1. Cultivos microbianos y otros materiales biológicos mantenidos en las colecciones registradas por el Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos Microbianos.

Centro Nacional de Biopreparados  Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo de la Energía Nuclear  Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria	80 99 90	10	0	0	0	1
de la Energía Nuclear		40	1			
Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria	90			0	0	0
		43	7	<b>6</b> 8	0	9
Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos	17	17	1	0	0	0
Centro de Investigaciones Pesqueras	60	0	0	0	0	0
Centro Nacional de Investigaciones Científicas	122	0	7	0	80	0
Facultad de Biología, Universidad de la Habana	50	32	1	2	0	0
Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar	43	96	156	0	0	0
Instituto de Ecología y Sistemática	0	27	0	0	0	
Instituto de Investigaciones de la Industria Alimentaria	173	118	171	0	0	0
Instituto de Investigaciones de Cítricos y otros Frutales	0	92	0	0	0	0
Instituto Nacional de Higiene de los Alimentos	42	0	0	0	0	0
Instituto Nacional de Higiene, Microbiología y Epidemiología	95	0	0	0	0	0
Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar	83	118	0	0	0	0
Instituto de Investigaciones Fundamentales en la Agricultura Tiopical	0	4 500	0	0	0	0
Instituto de Oceanología	450	0	0	0	15	0
Instituto Finlay	1 352	1	2	10	0	5
Instituto de Medicina Tiopical "Pedro Kouri"	81	46	15	0	1	66
Jardín Botánico Nacional	0	108	2	0	0	0
Laboratorios Biológicos Farmacéuticos	330	0	0	26	0	0
Unidad Militar 7872	17	36	3	0	0	0
TOTAL	3 184	5 284	366	104	96	81

I. Bacterias. II. Hongos. III. Levaduras. IV. Virus. V. Algas. VI. Líneas celulares.

Tabla 2. Materiales biológicos menos comunes registrados por el Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos Microbianos.

Colecciones	I	п	ш	<b>I</b> V	٧	٧I	٧II
Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria	21	6	6	0	4	18	2
Instituto Finlay	0	0	0	2	0	0	0
Instituto de Medicina Tiopical "Pedro Kouri"	0	0	0	12	0	0	0
TOTAL	21	6	6	14	4	18	2

I. Protozoos . II. Oligo-nucleótidos. III. Plásmidos. IV. Hibridomas.  $\lor$ I. Fagos.  $\lor$ II. Células hospederas.  $\lor$ II. Librerías genómicas.

dades correspondientes, falta de apoyo moral y económico por parte de las direcciones de los centros respectivos, no reconocimiento de la importancia de esta actividad, entre otros. Para que las colecciones de cultivos microbianos respondan a las demandas de la comunidad científica, éstas deben ser priorizadas.

No existen grandes colecciones cubanas de cultivos microbianos, sin embargo, cabe mencionar a las de los Institutos Finlay y de Investigaciones Fundamentales en la Agricultura Tropical como las que mantienen un mayor número de cepas. Existen colecciones que se dirigen a determinados objetivos como el clínico (Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourî"), a la agricultura (Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar), a la industria alimentaria (Instituto de Investigaciones de la Industria Alimentaria), bacterias de origen marino (Instituto de Oceanología), protección del medio ambiente (Departamento de Contaminación Ambiental-Centro Nacional de Investigaciones Científicas), para la docencia (Facultad de Biología, Universidad de la Habana), etcétera. Unas abarcan varios tipos de microorganismos y otros materiales biológicos (Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar), mientras otras, sólo un determinado grupo de gérmenes (Instituto Nacional de Higiene Microbiología y Epidemiología, Instituto de

Investigaciones de Cítricos y otros Frutales).

De las colecciones cubanas registradas en el Grupo Nacional de las Colecciones de Cultivos Microbianos, merece destacarse por su organización, la del Instituto Finlay, la cual ha logrado la agrupación de las diferentes subcolecciones del centro a nivel institucional con un sistema automatizado adecuado para el registro de la información, las que cuentan con un fuerte apoyo por parte de la dirección del centro que contribuye a su desarrollo, así como a su apropiado manejo y a la conservación de los recursos genéticos microbianos y de otros materiales biológicos.

ACTIVIDADES FUTURAS DEL GRUPO NACIONAL DE COLECCIONES DE CUL-TIVOS MICROBIANOS

Entre las actividades propuestas por el Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos Microbianos para desarrollar en los próximos tiempos, se encuentran las reuniones trimestrales y el Primer Taller Internacional y Segundo Nacional de Colecciones de Cultivos Microbianos en la segunda quincena de octubre de 1998 en el Instituto de Medicina Tiopical "Pedro Kouri".

### **BIBLIOGRAFIA**

 Kocur M. History of the Král Collection. "100 Years of Culture Collections". Proceedings of the Král Symposium to cel-

- ebrate the centenary of the establishment of the first recorded service culture collection. Sly L.I. y Kirsop B.E., World Federation for Culture Collections Biodiversity Committee, 4-12, 1990.
- 2. Fitze D. y Kocur M. Appendix 1: Král´s Bacteriologisches Laborato-num-Král Collection the first recorded service culture collection. "100 Years of Culture Collections". Proceedings of the Král Symposium to celebrate the centenary of the establishment of the first recorded service culture collection. Sly L.I. y Kirsop B.E., World Federation for Culture Collections Biodiversity Committee, 36-43, 1990.
- Porter J.R. The world view of culture collections. The role of culture collections in the era of molecular biology. Colwell R.R., American Society for Microbiology, Washington, 36-40, 1976.
- 4. Sugawara H. y Kirsop B.E. The WFCC Word Data Center on Microorganisms and global statistic on microbial resource centres. The Biodiversity of Microorganisms and the Role of Microbial Resource Centres. Kirsop B. E. y Hawksworth D.L., World Federation for Culture Collections Biodiversity Committee, 53-58, 1994.
- Malik K.A. Culture Collections: some technical informations. Technical Information for Culture Collection Curators in Developing Countries. Malik K.A., Education Committee, United Nations Educational, Scientific, and Cultural Organization/ World Federation for Culture Collections, 4-7, 1992.
- 6. Hawksworth D.L. y Aguirre-Hudson B. International Initiatives in Microbial Diversity. The Biodiversity of Microorganisms and the Role of Microbial Resource Centres. Kirsop B. E. y Hawksworth D.L., World Rederation for Culture Collections Biodiversity Committee, 65-72, 1994.
- European Culture Collection's Organization. European Culture Collections: Microbial diversity in safe hands. Information on holdings and services. 2nd ed., European Culture Collection's Organization, 52, 1995.
- 8. Pérez G, Iglesias E, Graña L y Rodríguez M. Reporte del trabajo realizado por el Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos 1995-1996. Ediciones Finlay, Ciudad de La Habana. 1997.

Si está interesado en integrar el Grupo Nacional de Colecciones de Cultivos Microbianos, en obtener más información acerca de las colecciones nacionales y otros datos de interés, así como en participar en su próximo Taller; favor dirigirse a cualesquiera de los representantes:

### Lic. Gladys Pérez de la Fuente

Instituto de Oceanología, Avenida Primera, No.18406, e/ 184 y 186, Reparto Flores, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléfono: 21 0300. Correo electrónico: Oceano@ceniai.inf.cu.

### Lic. Elsie Iglesias Pérez

Centro de Investigación-Producción de Vacunas y Sueros, Instituto Finlay, Avenida 27, No.19805, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléfono 21 1046. Correo electrónico Cepario@finlay.edu.cu.

### Lic. Fernando Travieso Ruiz

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y Calle 158, Reparto Cubanacán, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléfono: 21 1489. Correo electrónico: Travieso@diramic.cneuro.cu.