

Reseña histórica

Micoteca del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”: 60 años preservando la biodiversidad fúngica de interés médico en Venezuela

María Mercedes Panizo^{a,*}, Vera Reviakina^a, Vidal Rodríguez-Lemoine^b, Maribel Dolande^a, Víctor Alarcón^a, Giuseppe Ferrara^a, Nataly García^a, Gladys González^c

^aDepartamento de Micología. Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. ^bCentro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM). Instituto de Biología Experimental. Universidad Central de Venezuela. ^cGerencia de Docencia e Investigación. Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. Caracas, Venezuela.

Recibido 20 de marzo de 2015; aceptado 2 de julio de 2015

Resumen: La Micoteca del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” (INHRR) fue creada en el año 1955 y es la colección de hongos microscópicos autóctonos más grande y representativa del país. Cuenta con 2.500 cepas pertenecientes a 77 géneros y 165 especies de hongos y actinomicetos, de importancia médica, epidemiológica, industrial e histórica, preservados por duplicado bajo los métodos de agua por Castellani y aceite mineral. La colección tiene presencia a nivel internacional a través del catálogo y la página web del Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM), que a su vez está afiliada a la Federación Mundial de Colecciones de Cultivos (WFCC). Además, a través de su membresía a la Federación Latinoamericana de Colecciones de Cultivos (FELACC), sus datos están disponibles en la página web de la Asociación Argentina de Microbiología (AAM). La conservación de hongos microscópicos es fundamental, debido a su importancia en el funcionamiento de los ecosistemas y a su impacto en la vida del hombre. Esta Micoteca garantiza la preservación *ex situ* de la biodiversidad fúngica. Sus características la consolidan como una unidad cónsona con las exigencias de los ámbitos científico, tecnológico y docente, para el desarrollo de investigaciones científicas, particularmente en el área de medicina.

Palabras clave: colección de cultivos de hongos, micoteca, hongos, preservación *ex situ*.

Fungal collection of the National Institute of Hygiene “Rafael Rangel”: 60 years preserving fungal biodiversity of medical interest in Venezuela

Abstract: The fungal collection (Mycothec) of the National Institute of Hygiene “Rafael Rangel” (INHRR) was created in 1,955 and is the largest and more representative collection of the country’s indigenous microscopic fungi. It has 2,500 strains belonging to 77 genera and 165 species of fungi and actinomycetes retaining medical, epidemiological, industrial and historical importance, preserved by duplicate under water by Castellani and mineral oil methods. The collection has international presence through the catalog and the website of the Venezuelan Center of Microorganism Collections (CVCM), which in turn belongs to the World Federation of Culture Collections (WFCC). In addition, through its membership to the Latin American Federation of Culture Collections (FELACC) the data are accessible on the website of the Argentinian Association of Microbiology (AAM). The conservation of microscopic fungi is essential, due to its importance in the ecosystems functioning and their impact on human life. This Mycothec guarantee the *ex situ* conservation of fungal biodiversity. Its characteristics consolidate it as a consonant unit with the requirements of scientific, technological, and educational areas for the development of scientific research, particularly in the medicine area.

Keywords: fungal collection, mycothec, fungi, *ex situ* preservation.

* Correspondencia:
E-mail: mmpanizo@gmail.com

Introducción

Los hongos constituyen uno de los principales grupos de la vida, por su enorme diversidad y gran predominio sobre la tierra, resultado de la combinación de sus características

fisiológicas y anatómicas, que han permitido que se perpetúen como organismos heterótrofos. Más del 60% de las especies del Reino Fungi son microscópicas y cruciales para casi todos los aspectos del bienestar humano y la salud de los ecosistemas. Sin embargo, y a pesar de su enorme e

indiscutible importancia, los hongos han sido prácticamente ignorados y, lamentablemente en su mayoría, se encuentran en peligro de desaparición por la ausencia de políticas para su conservación [1].

Se han descrito aproximadamente 120.000 especies de hongos, pero la cantidad real se ha estimado en alrededor de 1,5 millones. Sin embargo, este número subestima la verdadera magnitud de la biodiversidad fúngica. Una fuente importante de error es la existencia de muchas especies crípticas dentro de grupos morfológicamente homogéneos, lo que ha sido demostrado en repetidas ocasiones por pruebas moleculares. El ritmo actual de descripción de nuevas especies de hongos es de aproximadamente 1.100 cada año. Realizar un inventario total tomaría 1.290 años al ritmo actual, lo que es poco práctico desde todo punto de vista [2,3].

Es evidente que realizar el aislamiento y caracterización de cualquier microorganismo no es suficiente; es necesario preservarlo sin cambios fenotípicos y genotípicos que permitan su estudio a futuro. Por lo tanto, estos aislamientos deben ser conservados en una colección pública, y depositados en al menos dos colecciones de cultivo adicionales, ubicadas en localidades diferentes con la finalidad de asegurar su disponibilidad a futuro [4].

Las colecciones de cultivos, llamadas también centros de recursos microbianos (Microbial Resource Centers, MRCs) y centros de recursos biológicos (Biological Resource Centers, BRCs), además de proveer un lugar para la preservación *ex situ* de los microorganismos, juegan un papel importante en el desarrollo de protocolos relacionados con la conservación a largo plazo, comprueban la viabilidad y autenticidad de los cultivos preservados, proporcionan entrenamiento en manejo de microorganismos y bioseguridad, suministran cepas de referencia para el control de calidad, proveen una plataforma invaluable para la preservación de genes y apoyan el desarrollo de los campos de la taxonomía, ecología, biodiversidad, genética y todas las actividades de investigación inherentes a las áreas mencionadas [4,5].

Mantener y conservar en buenas condiciones una colección de microorganismos, y en particular una de hongos, es una tarea que demanda constante atención y vigilancia. Se debe conocer todo lo relacionado con sus características morfológicas macro y microscópicas, condiciones de crecimiento y temperatura, propiedades bioquímicas y fisiológicas, así como también los métodos de preservación más favorables para su conservación y mantenimiento en el tiempo. Esto es sumamente importante, ya que los objetivos primordiales que persigue la conservación de cepas de hongos son: pureza, viabilidad y estabilidad morfológica y genética [6,7].

La Micoteca del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR) tiene 60 años de funcionamiento ininterrumpido desde su creación. Es única en su estilo, orientada a las necesidades del país, y con características propias de las colecciones especializadas y de servicios. Posee el acervo de hongos microscópicos autóctonos más

grande y representativo de nuestro territorio, integrado por cultivos de interés médico, epidemiológico, industrial e histórico. Mantiene además cepas de referencia para control de calidad y presta servicios de identificación y suministro para docencia e investigación a nivel nacional.

Este trabajo pretende rendir un justo y merecido homenaje, de reconocimiento y admiración, a todas aquellas personas que creyeron, continúan creyendo y están convencidas de que la conservación y el uso adecuado de los microorganismos, son la solución para hacer frente a los grandes problemas de la humanidad, particularmente los relacionados con la salud y el medio ambiente.

Breve reseña histórica

En el año 1953 se fundó la Sección de Micología del INHRR y en 1955 se creó la micoteca, como una necesidad para su desarrollo. Se inició con 187 aislamientos de hongos, principalmente de interés médico y autóctonos de nuestro país. En 1958 la sección ascendió organizativamente a departamento y en ese mismo año se publicó una lista de las cepas pertenecientes a la micoteca [8], la cual contaba ya con 322 especímenes, aislados en el departamento y/o donados por eminentes médicos de la época como: Dr. Juan Enrique Mackinnon (Instituto de Higiene de Montevideo), Dr. Dante Borelli (Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela), Dr. Humberto Campíns (Barquisimeto, estado Lara), Dr. José Barnola (Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela), Dr. Ladislao Pollack (Hospital Dr. José Ignacio Baldó) y Dr. Enrique Tejera (INHRR) (Figura 1). El encargado de la micoteca y jefe del Departamento de Micología era el Dr. Lorenzo de Montemayor, quien merece especial mención,



Figura 1. Eminentes médicos que colaboraron donando cepas a la micoteca del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". (1) Dr. Juan Enrique Mackinnon. (2) Dr. Dante Borelli. (3) Dr. Humberto Campíns. (4) Dr. José Barnola. (5) Dr. Ladislao Pollack. (6) Dr. Enrique Tejera Guevara. Fuentes: Foto 1: www.isham.org. Fotos 2-6: Cazadores de Microbios en Venezuela.

ya que la donación de cepas fue una de sus iniciativas, buscando preservar la biodiversidad fúngica autóctona de la época. Como hecho relevante, se conservó en esta micoteca el primer aislamiento sudamericano de *Blastomyces dermatitidis* y el Dr. Montemayor participó como coautor en la publicación del caso [9]. Su valiosa labor fue esencial para el desarrollo del campo de la micología en nuestro país y sus aportes siguen siendo hoy en día material de consulta [10,11].

El Dr. Enrique Tejera también merece una mención especial. A manera de anécdota histórica, se citarán a continuación textualmente dos párrafos de una nota manuscrita inédita, redactada por el Dr. Lorenzo de Montemayor en 1993 titulada “Sobre micotecas”, en la que se refiere al trabajo del Dr. Tejera en pro del desarrollo de la micología, la cual se encuentra en la publicación de Iturriaga y col [12].

“...Más tarde, el eminente sabio microbiólogo Prof. Dr. Enrique Tejera se dedicó a aislar Actinomycetes del suelo (en especial *Streptomyces*), productores de antibióticos. Es ejemplar la tenacidad y constancia de este célebre investigador, quien estudió más de 30.000 muestras de suelo de muchos sitios del país, y aisló más de 10.000 cepas de hongos productores de antibióticos en su Laboratorio del INH-Caracas; a él se debe el descubrimiento de la Cloromicetina y especies nuevas como el *Streptomyces venezuelae*.

Es imposible tratar el tema de las micotecas sin recordar al eminente científico Tejera, y rendirle un profundo homenaje de admiración, reconocimiento y estimulación. Cuando se empezó a trabajar en micología en el INH de Caracas, él brindó su apoyo científico y asesoramiento a los investigadores; también facilitó muchas cepas de su colección (la mayor del país), bibliografía y reactivos difíciles de conseguir, que él importaba directamente del exterior...”

La historia del aislamiento del *S. venezuelae* y del cloranfenicol (Cloromicetina) desafortunadamente no tuvo un final feliz, ya que Ehrlich *et al*, de Laboratorios Lederle en Estados Unidos, usaron los datos originales de los estudios microbiológicos y ensayos de antibiosis realizados por el Dr. Tejera en 1946, publicando como propios los resultados obtenidos sin su consentimiento y sin reconocer su autoría. La cepa fue denominada taxonómicamente como *S. venezuelae* sólo como reconocimiento al país donde fue descubierta y posteriormente se aisló y caracterizó la Cloromicetina o Cloranfenicol [13-16]. Esta historia ha sido objeto de muchas interpretaciones; para mayor información se recomienda la lectura de la referencia citada [17].

Al principio, la micoteca funcionaba en una pequeña habitación ubicada muy cerca de la entrada del departamento (Figura 2). Posterior a la jubilación del Dr. Montemayor en el año 1976, la Lcda. Romea Mizrachi y el técnico de laboratorio, el Sr. Williams Montes, quedaron a cargo de la micoteca; la Lcda. Mizrachi fue entrenando al Sr. Montes en el arte y preservación de los cultivos de hongos. Los datos de las cepas se registraban manualmente en fichas

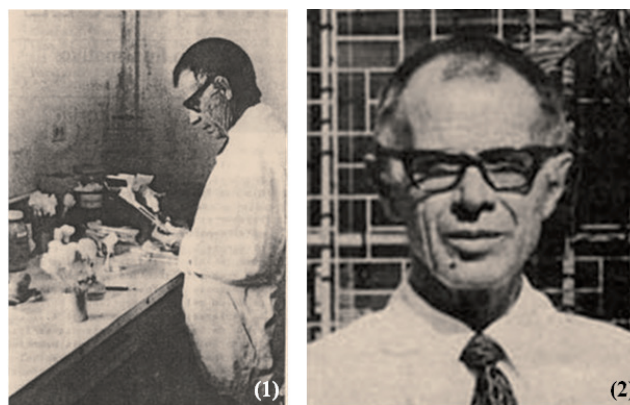


Figura 2. Dr. Lorenzo de Montemayor. (1) En la micoteca. (2) En la Universidad Central de Venezuela. Fuentes: Foto 1: Boletín Informativo “La Micosis en Venezuela”. 1991; 19:2-4. Foto 2: Cazadores de Microbios en Venezuela.

en las que se asentaba el nombre del hongo, un número (que generalmente se correspondía con el que se asignaba al cultivo), la fecha y fuente de aislamiento, así como un record de mantenimiento, que constaba de las fechas en las cuales se repicaba el hongo para verificar su viabilidad y pureza en la colección. Cuando se amplió la planta física del Departamento de Micología en el año 1990, la micoteca se trasladó al segundo piso y allí funciona desde entonces. Al jubilarse la Lcda. Mizrachi en el año 1994, la colección siguió funcionando durante 8 años gracias a la experiencia y dedicación del Sr. Montes. Para el año 1996, se publicó nuevamente una lista de las principales cepas pertenecientes a la micoteca en el Boletín Informativo “Las Micosis en Venezuela”, con un total de 68 géneros y 135 especies [18].

En el año 2001, el directorio del Consejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas CONICIT (Actualmente FONACIT, Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación), aprobó la propuesta del Laboratorio Nacional N° Lab-2000001587 titulado: “Creación de la Colección de Cultivos de Servicio de Hongos, Virus y Líneas Celulares del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel con Aplicación en Ciencia y Tecnología”, bajo la coordinación de la Lcda. Gladys González Cordero, como un nodo del Laboratorio Nacional N° Lab-1997000677 titulado “Centro Venezolano de Colección de Microorganismos (CVCM)”, bajo la dirección científica del Dr. Vidal Rodríguez-Lemoine. La propuesta del INHRR planteó la creación de una colección de hongos, virus y líneas celulares a partir de las colecciones de investigación existentes en la institución, con el objeto de ponerlas a la disposición de los sectores científico, industrial y salud. Sin embargo, en vista de que ya existía un Laboratorio Nacional de Microorganismos, la decisión del CONICIT fue la de integrar recursos y esfuerzos entre ambos laboratorios, de acuerdo a la normativa del Programa de Laboratorios Nacionales [19].

En el año 2002, en acuerdo suscrito entre el INHRR y el CVCM, se creó el primer nodo de servicio denominado INHRR-CVCM, responsable de la manipulación, caracterización, preservación, almacenamiento, distribución y comercialización de los microorganismos mantenidos

en el INHRR, con independencia financiera y funcional. Además, el INHRR proporcionaría al CVCM la información científico-técnica relevante de los microorganismos preservados en el nodo, con la finalidad de ser incorporada gradualmente al Banco de Datos del CVCM, con miras a la edición de los catálogos [19].

A partir del año 2003, las colecciones de investigación, con varias décadas de existencia en el INHRR, se integraron para crear la Colección de Cultivos “Rafael Rangel”. Como curadora de la colección de hongos se designó a la MSc. María Mercedes Panizo, quien se ha mantenido a cargo de la misma desde entonces. Esta colección ha seguido funcionando y creciendo gracias al apoyo institucional, con el que siempre ha contado, de la Gerencia de Diagnóstico y Vigilancia Epidemiológica del INHRR, ya que sus procesos están contemplados dentro de la rutina de trabajo del Departamento de Micología.

Características de la colección

Funciones: La función principal de la micoteca, es la adecuada conservación *ex situ* de las cepas de hongos, bajo las siguientes normas: 1) Preservación y mantenimiento de cultivos puros, viables y fieles a su identificación; 2) Mantenimiento de estabilidad genética; 3) Conservación de la biodiversidad; 4) Utilización de al menos dos métodos de preservación, que sean los más adecuados de acuerdo a las características de los hongos a conservar; 5) Mantenimiento de sus características de patogenicidad.

Entre otras funciones de la micoteca se pueden citar: a) Recolección, ordenamiento y sistematización de la información sobre las características de cada uno de los hongos conservados en la colección, para alimentar la base de datos; b) Apoyo técnico y científico a los investigadores e instituciones nacionales que lo necesiten, así como asesoría para la incorporación a la micoteca de hongos que cumplan con el perfil de la misma y sean de interés para las actividades que desarrolla; c) Suministro de cepas para las actividades docentes del postgrado “Especialización en Micología Médica” del INHRR, que funciona en el Departamento de Micología; d) Servicio de suministro de cepas para proyectos de investigación, actividades docentes de universidades del país y control de calidad de procesos para la industria.

Métodos de preservación: Para la preservación de los hongos, tanto levaduriformes como filamentosos, en la micoteca se utilizó desde sus inicios el método de conservación de capa de aceite mineral. Este método consiste en sembrar trozos de cultivos de hongos ya desarrollados en tubos que contienen agar dispuesto en forma de taco en un tubo con tapa de rosca y posteriormente se cubren con una capa de aceite mineral estéril [20]. El agar utilizado para la conservación mediante este método actualmente es el extracto de malta con 0,2% de glucosa. A partir del año 1970 se implementó adicionalmente el método de Castellani, que se basa en la conservación del cultivo del hongo ya desarrollado en

agua destilada estéril [21]. Estos dos métodos se siguen utilizando actualmente con excelentes resultados.

Los hongos se hallan preservados por duplicado bajo los dos métodos mencionados anteriormente, lo que permite mantener prácticamente dos colecciones en simultáneo, asegurando así su permanencia. Se encuentran almacenados en gradillas dispuestas en estantes, protegidos de la luz y el polvo, ordenados alfabéticamente y a una temperatura que oscila entre 25-28 °C. Estos métodos han demostrado su rentabilidad y elevada capacidad para la conservación de cepas de hongos; además, son los más recomendados para el mantenimiento de hongos patógenos aislados de material clínico. Son sencillos, económicos, poco laboriosos y aseguran en el tiempo las características originales de las cepas, su patogenicidad y estabilidad genética, pero requieren espacio para el almacenamiento, constante vigilancia y atención por parte del personal que se ocupa de su mantenimiento. En esto coinciden la mayoría de los autores que han escrito sobre el tema [6,7,20-23].

Actualmente, se está implementando el método de congelación a -70 °C, particularmente para levaduras con buena esporulación, mediante el uso de caldo extracto de levadura-peptona-glucosa (Yeast Extract Peptone Glucose, YPD) más glicerol al 80% [23] con buenos resultados; sin embargo, y para asegurar la permanencia de los cultivos, paralelamente se usa el método de Castellani y se conservan por duplicado en cada método.

Acervo de la colección: Los criterios para la selección de las cepas que ingresan a la colección se han basado fundamentalmente en: 1) patogenicidad para el hombre (El 90% de las cepas procede de aislamientos clínicos); 2) interés epidemiológico a nivel nacional y mundial; 3) implicación en brotes epidémicos o nosocomiales; 4) interés industrial; 5) aislamiento ambiental con potencial patógeno para el hombre; 6) interés histórico.

La micoteca cuenta actualmente con 2.500 cepas pertenecientes a 77 géneros y 165 especies de hongos levaduriformes, filamentosos y actinomicetos. Se han registrado y actualizado los datos de identificación y taxonomía de 2.125 (85%) de estas cepas, mediante la creación y automatización de una ficha. El 54,6% (n=1.160) son hongos filamentosos, representados por 58 géneros y 116 especies; 935 (44%) son hongos levaduriformes, con 16 géneros y 44 especies (Tabla 1) y 30 (1,4%) son actinomicetales, con 3 géneros y 5 especies.

En la colección se encuentran conservados los agentes responsables de micosis superficiales (géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*), micosis profundas localizadas o subcutáneas (agentes de cromoblastomicosis, esporotricosis y micetomas), micosis endémicas (*Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis*, Complejo *Coccidioides* sp.) y micosis oportunistas (*Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Aspergillus* spp., y agentes de zigomicosis, hialohifomicosis y feohifomicosis). Además se cuenta con cepas bacterianas de actinomicetos aerobios (géneros *Nocardia*, *Actinomadura* y *Streptomyces*), agentes causales

Tabla 1. Distribución de los géneros de hongos filamentosos (n=1160) y levaduriformes (n=935) de la micoteca del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel".

Hongos filamentosos		Hongos levaduriformes	
Género	%	Género	%
<i>Trichophyton</i> spp.	35	<i>Candida</i> spp.	67
<i>Aspergillus</i> spp.	16	<i>Cryptococcus</i> spp.	25
<i>Fusarium</i> spp.	10	<i>Pichia</i> spp.	1
<i>Microsporum</i> spp.	8	<i>Saccharomyces</i> spp.	1
<i>Histoplasma capsulatum</i>	6	<i>Trichosporon</i> spp.	1
<i>Penicillium</i> spp.	3	<i>Zygosaccharomyces</i> spp.	1
<i>Epidermophyton floccosum</i>	2	<i>Debaryomyces</i> spp.	1
<i>Paecilomyces</i> spp.	2	<i>Hanseniaspora</i> spp.	1
<i>Acremonium</i> spp.	2	Otros géneros	2
<i>Curvularia</i> spp.	2		
<i>Sporothrix</i> spp.	2		
Otros géneros	12		

de micetomas e infecciones respiratorias, que cursan con cuadros clínicos similares a los causados por los hongos; de allí la importancia de su conservación y estudio.

También se mantienen preservados los agentes causales de micosis raras o poco comunes, tales como *Geotrichum candidum* (agente causal de la geotricosis), *Emmonsia crescens* y *E. parva* (agentes causales de la adiaspiromicosis), así como también *Conidiobolus coronatus* y *Basidiobolus ranarum*, causantes de la conidiobolomicosis, un tipo de zigomicosis subcutánea. Mención especial merecen las algas aclorofilicas del género *Prototheca* (*P. zopfii* y *P. wicherhamii*), que causan la algosis, una infección que cursa con lesiones cutáneas y subcutáneas semejantes a las producidas por los hongos que causan micosis profundas localizadas, cuyo crecimiento en cultivo es similar al de las levaduras.

En cuanto a las cepas de interés histórico, en la colección se encuentran preservadas cepas de hongos donadas por el Dr. Dante Borelli, médico dermatólogo y micólogo de la Sección de Micología del Instituto de Medicina Tropical de la Universidad Central de Venezuela. Su constante preocupación por la conservación de hongos de interés médico y epidemiológico lo llevó a donar cepas a otras colecciones, con la finalidad de asegurar su disponibilidad a futuro y tener duplicados de las mismas en caso de que pudiese perderlas. Esta práctica sigue siendo habitual entre las colecciones por las razones expuestas anteriormente. Producto de esta donación, en la micoteca se encuentran preservadas: la cepa original de *Rhinocladiella aquaspersa*, uno de los agentes causales de cromoblastomicosis, descrito taxonómicamente a nivel mundial y por primera vez en Venezuela por el Dr. Borelli

[24,25]; *Cladosporium castellanii*, una especie nueva autóctona de Venezuela, causante de la tiña negra, descrita y caracterizada taxonómicamente por Borelli y Marcano en 1973 [26] y reclasificada en 1978 como *Stenella araguata* [27]; *Cladosporium bantianum*, uno de los agentes causales de feohifomicosis, descrito por Saccardo y Borelli, reclasificado posteriormente por eminentes taxónomos de la época, incluyendo a Borelli, como *Xylohypha bantiana* [28]; *Pyrenochaeta romeroi* y *P. mackinnonii*, aisladas y descritas taxonómicamente por primera vez en Venezuela por Borelli, de casos de eumicetoma de granos negros [29,30]; *Taeniolella boppii*, nuevo agente causal de cromoblastomicosis, descrito taxonómicamente por Borelli y aislado en Brasil [31].

La colección cuenta con otras cepas de interés histórico donadas por eminentes médicos e instituciones de referencia, así como también aisladas en el Departamento de Micología, entre ellas: *Monosporium apiospermum* (actualmente *Scedosporium apiospermum*), *Aspergillus oryzae*, *Absidia blakesleana* y *Sporothrix schenckii*, donadas por el Dr. Manuel Escuder (Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela), procedentes de la colección del Dr. Floriano de Almeida de Brasil (1961); *S. venezuelae* (1958), *Phialophora dermatitidis* (1974) y *Beauveria bassiana* (1983), donadas por el Dr. Enrique Tejera; *E. crescens* y *E. parva*, donadas por el Dr. Francois Mariat del Instituto Pasteur de París a la licenciada Gladys Tapia (1975); *Coccidioides immitis*, aislado en Venezuela por primera vez gracias a la licenciada Gladys Tapia, de unas muestras de suelo recolectadas por el Dr. Humberto Campíns provenientes del estado Lara [32]; *Trichophyton mariatii*, una nueva especie de dermatofito aislada en Venezuela por las licenciadas Gladys Tapia y Romea Mizrachi, de muestras de suelo del área metropolitana de Caracas [33,34].

Dotación: La micoteca ha pasado por un proceso de reestructuración organizativa, administrativa y de procesos, que la ha llevado a poseer un área totalmente equipada, procesos de preservación y mantenimiento optimizados, base de datos semiautomatizada y personal calificado. Además, está en continuo crecimiento, ya que está ubicada en un centro de referencia nacional en diagnóstico micológico (Figura 3).

Servicios: Actualmente ofrece los siguientes servicios: 1) Aislamiento, identificación y caracterización de cultivos de hongos por métodos convencionales y automatizados, que sean de interés clínico, epidemiológico, industrial e histórico, con potencial para el desarrollo de actividades docentes y de investigación en las áreas de Biomedicina, Microbiología, Genética, Biotecnología y Salud Pública; 2) Conservación de cepas: por los métodos de capa de aceite mineral, Castellani y congelación; 3) Suministro de cepas: para investigación, docencia, control de calidad y procesos industriales. Las solicitudes se realizan a través de la Gerencia de Docencia e Investigación del INHRR,



Figura 3. Micoteca del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. (1 y 2): Aspecto de la micoteca hasta el año 2005. (3-5) Aspecto actual.

previa información sobre la disponibilidad de la cepa y bajo la completa responsabilidad de la institución solicitante o su representante. La distribución se realiza bajo las normas y recomendaciones generales aprobadas por la Federación Mundial de Colecciones de Microorganismos (World Federation of Culture Collections, WFCC) y las regulaciones nacionales. Todas las solicitudes quedan registradas en los archivos de la Gerencia de Docencia e Investigación y del Departamento de Micología del INHRR; 4) Depósito de cepas fúngicas y de actinomicetales: previa solicitud al Departamento de Micología del INHRR.

Catálogo y presencia a nivel internacional: Gracias al acuerdo suscrito con el CVCM y la creación del nodo de servicio INHRR-CVCM, una parte del acervo de la micoteca fue integrada al Catálogo del CVCM. La información sobre 176 hongos filamentosos y 64 hongos levaduriformes fue incorporada a un banco de datos común denominado CVCMdata, editado bajo la responsabilidad del CVCM. La organización de la información de los hongos está registrada de la siguiente forma: 1) Nombre científico y autor (es) de la identificación; 2) Número de acceso en el CVCM; 3) Designaciones equivalentes: 3.1) Código INHRR: Número del código asignado por la base de datos de la colección de cultivos de servicio del INHRR; 3.2) Código Departamento de Micología: Número asignado por la base de datos diseñada para el Departamento de Micología; 3.3) Designaciones equivalentes en otras colecciones; 4) Historia de la cepa hasta su llegada al Departamento de Micología; 5) Referencias bibliográficas; 6) Comentarios; 7) Condiciones de cultivo: medio de cultivo recomendado, pH, temperatura de incubación; 8) Condiciones de preservación: Método de preservación empleado, pH, temperatura de preservación;

9) Riesgo biológico [19].

Con la inclusión del nodo del INHRR se han editado y distribuido catálogos en formato impreso y CDrom hasta el año 2013; la última edición está disponible en internet a través de la página web del CVCM: <http://cvcm.ciens.ucv.ve/>. Desde el año 1997 el CVCM fue incorporado al Sistema Internacional de Colecciones a través de su afiliación a la WFCC, registrado bajo el número WDCM 815, por lo tanto, otro de los beneficios del acuerdo suscrito, es que una muestra del acervo de nuestra colección tiene presencia a nivel internacional a través del catálogo y la página web del CVCM, del cual se nutre de información directamente la WFCC [19].

Por otra parte, la Colección de Cultivos “Rafael Rangel” y por ende la micoteca, está afiliada a la Federación Latinoamericana de Colecciones de Cultivos (FELACC), que es un organismo sin fines de lucro que reúne colecciones de cultivos microbianos de América Latina y El Caribe; desde su fundación en 2004, promueve la cooperación entre instituciones interesadas en la preservación *ex situ* de la diversidad microbiana. La base de datos de las colecciones federadas reúne 51 colecciones de cultivos, públicas y privadas de Argentina, Brasil, Colombia, Cuba, Ecuador, México, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela. Las características de nuestra colección, su perfil, tipos de hongos que conserva, servicios y datos de contacto, entre otros de interés, se pueden consultar en la página web de la Asociación Argentina de Microbiología (AAM) <http://www.aam.org.ar> (Subcomisiones/Colecciones de Cultivos Microbianos/Base de Datos) y en la página web de la WFCC: <http://www.wfcc.info/network.html>.

Publicaciones y actividades: Desde la creación de la

micoteca en 1955, todos los profesionales encargados de la curaduría de la misma han sido personas muy identificadas con la conservación de los hongos y se han involucrado en actividades y proyectos de investigación que han generado publicaciones [22,35-38]. Entre los proyectos más recientes y de carácter netamente institucional se encuentran: “Organización y registro de las cepas de hongos levaduriformes y filamentosos existentes en la micoteca del Departamento de Micología del INHRR”, “Vigilancia de la resistencia de los hongos levaduriformes y filamentosos a los antifúngicos”, y “Fortalecimiento de los espacios del Departamento de Micología del INHRR para la formación de investigadores en Micología Médica” (con financiamiento del FONACIT).

Por medio de la participación en diversos congresos y jornadas, tanto nacionales como internacionales, se ha dado a conocer la evolución de la colección, las técnicas de preservación de los cultivos, la importancia de la preservación de la biodiversidad, la bioseguridad en colecciones, la gestión de la calidad, etc. Muchas de estas actividades se han realizado en conjunto con el CVCMI, la FELACC y otras colecciones internacionales.

Planes a futuro: Las infecciones causadas por hongos patógenos oportunistas están continuamente emergiendo y re-emergiendo, sobre todo aquellas causadas por hongos poco frecuentes y aislados del ambiente, por lo tanto, se han convertido en un auténtico reto para la salud pública.

La identificación apropiada de los hongos debe incluir información acerca de su descripción morfológica, propiedades bioquímicas y fisiológicas, papel en el ecosistema y beneficios o riesgos para la sociedad. Para acometer de forma eficiente este proceso, se ha propuesto recientemente que la identificación taxonómica de los hongos se debe abordar desde el punto de vista polifásico [39]. Debido a esto, la micoteca está incorporando técnicas de biología molecular para la confirmación taxonómica, tanto de las cepas ya conservadas como las de nuevo ingreso. Gracias a los avances en el desarrollo de técnicas moleculares, los esquemas de clasificación taxonómica para los hongos patógenos han variado considerablemente en los últimos 10 años [40], por lo tanto, una colección de hongos patógenos para el humano, como la que funciona en el INHRR, debe invertir en la capacitación del recurso humano y en equipos de avanzada para profundizar en el conocimiento de los hongos, lo cual repercutirá a futuro en el avance y mejoramiento del abordaje clínico y terapéutico de las infecciones que causan.

También es muy importante incorporar nuevos métodos de preservación. Uno de los retos es consolidar la congelación como tercer método, utilizando diferentes agentes conservantes que garanticen la viabilidad en el tiempo de las especies.

Consideraciones finales

Los hongos microscópicos se encuentran entre los

organismos más importantes de la naturaleza; conservarlos es fundamental, debido a su importancia en el funcionamiento de los ecosistemas y a su impacto, tanto beneficioso como perjudicial, para la vida del hombre. No obstante, sólo se conoce la punta del iceberg en cuanto a la biodiversidad fúngica que habita el planeta. Su conservación ha recibido mucho menos atención que la dedicada a las plantas, animales y bacterias. Son recursos generalmente ignorados y que deberían considerarse en programas de conservación, vigilancia, impacto ambiental y valoración de la diversidad [1].

En 1992 se celebró la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y Desarrollo o “Cumbre de la Tierra”, en la cual se adoptaron los siguientes instrumentos multilaterales: 1) Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (UNFCCC); 2) Convención de las Naciones Unidas para la Lucha contra la Desertificación (UNCCD) y 3) Convenio sobre la Diversidad Biológica (CBD por sus siglas en inglés). Éste último es el instrumento jurídico internacional más importante para promover la conservación, el uso sustentable de la biodiversidad y la repartición equitativa de los beneficios generados de su utilización. El CBD entró en vigor el 29 de diciembre de 1993. Por otra parte, y siguiendo una recomendación de los países firmantes del CBD durante la Conferencia de las Partes (COP 2010) celebrada en Nagoya, Japón, en octubre del año 2010, las Naciones Unidas declararon, en diciembre de ese mismo año, la Década Global de la Diversidad Biológica desde el 2011 hasta el 2020. Este convenio otorga un elevado compromiso y responsabilidades a las colecciones de cultivos, ya que deberán desempeñar un papel preponderante en la preservación y utilización de la biodiversidad microbiana a nivel global. Más información sobre este particular se puede obtener directamente de la página web Convention on Biological Diversity: <http://www.cbd.int/>.

El reto para las colecciones que preservan hongos es considerable. La enorme diversidad existente, la necesidad de emplear cepas para el control de calidad de procesos en las áreas de diagnóstico micológico, producción de productos biológicos, registro y control de alimentos, medicamentos y cosméticos, el desarrollo de proyectos de investigación y las necesidades en el área de docencia, son las razones fundamentales para la existencia y funcionamiento de una colección de cultivos de hongos como la de nuestra institución.

La micoteca del INHRR garantiza la preservación *ex situ* de la biodiversidad fúngica de interés médico. Sus características la consolidan como una unidad cónsona con las exigencias de los ámbitos científico, tecnológico y docente, para el desarrollo de investigaciones científicas, particularmente en el área de medicina.

Agradecimientos

El Departamento de Micología quiere agradecer a todas aquellas personas que estuvieron involucradas en el

nacimiento y mantenimiento en el tiempo de la micoteca de nuestra institución: Dr. Lorenzo de Montemayor†, Lcda. Gladys Tapia†, Lcda. Romea Mizrachi, Sr. Williams Montes, Dr. Vidal Rodríguez-Lemoine, Lcda. Juana Vitelli-Flores, y finalmente la Presidencia, la Gerencia Sectorial de Diagnóstico y Vigilancia Epidemiológica y la Gerencia de Docencia e Investigación del INHRR.

Referencias

- Heredia Abarca G, editora. Tópicos sobre diversidad, ecología y usos de los hongos microscópicos en Iberoamérica. Xalapa, Veracruz, México: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) – Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Veracruz, México; 2008.
- Hawksworth DL. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycol Res*. 2001; 109:1422–32.
- Hawksworth DL. Monitoring and safeguarding fungal resources worldwide: the need for an international collaborative MycoAction Plan. *Fung Diver*. 2003; 13:29-45.
- Prakash O, Shouche Y, Jangid K, Kostka JE. Microbial cultivation and the role of microbial resource centers in the omics era. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013; 97:51-62.
- Janssens D, Arahal DR, Bizet C, Garay E. The role of public biological resource centers in providing a basic infrastructure for microbial research. *Res Microbiol*. 2010; 161:7210-5.
- García López MD, Uruburu Fernández F. La conservación de cepas microbianas. *Actualidad SEM*. 2000; 30:12-6.
- Nakasone KK, Peterson SW, Jong SC. Preservation and distribution of fungal cultures. In: Mueller GM, Bills GF, Foster MS, editors. *Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods*. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2004. p 37-47.
- Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Memoria y Cuenta. Caracas: Ministerio de Sanidad y Asistencia Social; 1958. p 299-303.
- Polo FJ, Brass K, de Montemayor L. Gilchrist's disease in Venezuela: first case; clinical study; histological confirmation; isolation and determination of the first South American strain of *Blastomyces dermatitidis*. *Revista de Sanidad y Asistencia Social*. 1954; 19:217-35.
- Yegres F, Richard-Yegres N. Homenaje. Profesor Lorenzo de Montemayor. Su valiosa labor en el campo de la Micología. Boletín Informativo "Las Micosis en Venezuela". 1991; 19:2-4.
- Santiago AR. Lorenzo de Montemayor. *Acta Científica de la Sociedad de Bioanalistas Especialistas*. 1993; 2:35-40.
- Iturriaga T, Páez I, Sanabria N, Holmquist O, Bracamonte L, Urbina H, editores. Estado actual del conocimiento de la micobiota en Venezuela. Caracas, Venezuela: Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables (MARNR); 2000.
- Ehrlich J, Bartz QR, Smith RM, Joslyn DA, Burkholder PR. Chloromycetin, a new antibiotic from a soil actinomycete. *Science*. 1947; 106:417.
- Ehrlich J, Gottlieb D, Burkholder PR, Anderson LE, Pridham TG. *Streptomyces venezuelae*, n. sp., the source of chloromycetin. *J Bacteriol*. 1948; 56:467.
- Bartz QR. Isolation and characterization of chloromycetin. *J Biol Chem*. 1948; 172:445-50.
- Controulis J, Rebstock MC, Crooks HM. Chloramphenicol (Chloromycetin). I V. Synthesis. *J Am Chem Soc*. 1949; 71:2463-8.
- Serrano JA, Serrano JJ. Enrique Tejera como actinomicetólogo. Enrique Tejera una visión filosófica vital. Mérida, Venezuela: Ediciones del Rectorado, Universidad de Los Andes; 1996.
- Reviakina V, Dolande M. Micoteca del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Boletín Informativo "Las Micosis en Venezuela". 1996; 28:54-6.
- Rodríguez-Lemoine V, editor. Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos. Catálogo 2013. Octava edición. Caracas: Ediciones CVCVM®; 2013.
- Smith D, Onions AHS. The preservation and maintenance of living fungi. Great Britain, England: Commonwealth Agricultural Bureaux; 1983.
- Castellani A. Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water. Further researches. *J Trop Med Hyg*. 1967; 70:181-4.
- Panizo MM, Reviakina V, Montes W, González G. Mantenimiento y preservación de hongos en agua destilada y aceite mineral. *Rev Soc Ven Microbiol*. 2005; 25:35-40.
- Bergman LW. Growth and maintenance of yeasts. Chapter 2. In: MacDonald PN, editor. *Methods in Molecular Biology*. Vol 177. Two-Hybrid Systems: Methods and Protocols. Totowa, NJ: Humana Press, Inc.; 2001. p 9-14.
- Borelli D. *Acrotheca aquaspersa* nova sp., agente de cromomicosis. *Acta Cient Venez*. 1972; 23:193-6.
- Pérez-Blanco M, Fernández-Zeppenfeldt G, Hernández R, Yegres F, Borelli D. Cromomicosis por *Rhinocladiella aquaspersa*: descripción del primer caso en Venezuela. *Rev Iberoam Micol*. 1998; 15:51-4.
- Borelli D, Marcano C. *Cladosporium castellanii* nova species. agente de Tinea Nigra. *Castellania*. 1973; 1:151-4.
- McGinnis MR, Padhye AA. *Cladosporium castellanii* is a synonym of *Stenella araguata*. *Mycotaxon*. 1978; 7:415-8.
- McGinnis MR, Borelli D, Padhye AA, Ajello L. Reclassification of *Cladosporium bantianum* in the Genus *Xylohypha*. *J Clin Microbiol*. 1986; 23:1148-51.
- Borelli D. *Pyrenochaeta romeroi* n. sp. *Revista*

- Dermatología Venezolana. 1959; 1:325-8.
30. Borelli D. *Pyrenochaeta mackinnonii* nova species agente de micetoma. Castellania. 1976; 4:227-34.
 31. Bopp C, Vettoratto, Borelli D. Chromoblastomycosis caused by a new species: *Taeniolella boppii*. Med Cutan Ibero Lat Am. 1983; 11:221-6.
 32. Tapia, Gladys. Aislamiento del *Coccidioides immitis* del suelo en Venezuela. Gaceta Médica de Caracas. 1969; 4-6:235-8.
 33. Tapia de Fossaert G, Mizrachi R, Padhye AA, Ajello L. *Trichophyton mariatii*, new Venezuelan species. Pan American Health Organization (PAHO) - World Health Organization (WHO), editors. Superficial Cutaneous and Subcutaneous Infections: Fifth International Conference on the Mycoses. Scientific Publication, 396. USA: PAHO-WHO; 1980. p 154-8.
 34. Tapia de Fossaert G, Mizrachi R. *Trichophyton mariatii* nueva especie. Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". 1978; 7:4-5.
 35. Lage L, Panizo MM, Ferrara G, Reviakina V. Validación del inóculo por densitometría para las pruebas de susceptibilidad a los antifúngicos en especies del género *Fusarium*. Rev Soc Ven Microbiol. 2013; 33:46-52.
 36. Duarte A, Panizo MM, Ferrara G, Lage L, Reviakina V, Dolande M. Susceptibilidad *in vitro* a cinco antifúngicos de aislamientos del Complejo *Fusarium solani* provenientes de úlceras corneales. Rev Soc Ven Microbiol. 2014; 34:75-80.
 37. Ferrara G, Panizo MM, Mazzone M, Pequenez MD, Reviakina V. Estudio comparativo entre los sistemas automatizados Vitek YBC® y Microscan Walk Away RYID® con los métodos fenotípicos convencionales para la identificación de levaduras de interés clínico. Invest Clin. 2014; 55:1-14.
 38. Panizo MM, Reviakina V, Flores Y, Montes W, González G. Actividad de fosfolipasas y proteasas en aislados clínicos de *Candida* spp. Rev Soc Ven Microbiol. 2005; 25:88-95.
 39. Simoes MF, Pereira L, Santos C, Lima N. Polyphasic identification and preservation of fungal diversity: concepts and applications. Chapter 5. In: Malik A, Grohmann E, Alves M, editors. Management of microbial resources in the environment. The Netherlands: Springer Science – Business Media Dordrecht; 2013.
 40. de Hoog GS, Chaturvedi V, Denning DW, Dyer PS, Frisvad JC, Geiser D, *et al.* Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice. J Clin Microbiol. 2015; 53:1056-62.