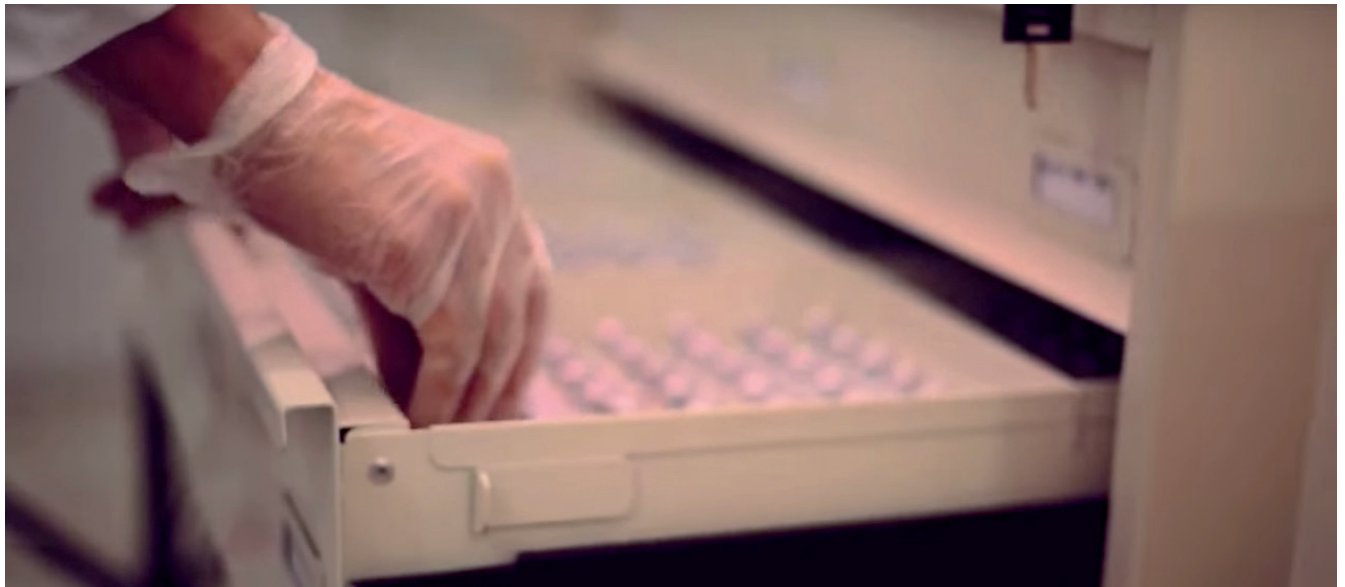




# Cómo realizar un depósito microbiano en la Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos (CChRGM)

Jean Franco Castro - Andrés France, INIA Quilamapu

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS - INFORMATIVO N° 149



La Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos (CChRGM) es una entidad perteneciente al Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), cuya principal misión es preservar y valorizar los recursos microbiológicos de Chile. Al igual que otras colecciones de cultivos, la CChRGM juega un rol importante en la preservación *ex situ* de microorganismos, entregando una fuente de recursos microbiológicos para apoyar las investigaciones en agricultura, biotecnología y servicios a la comunidad, como son los depósitos de microorganismos en catálogos públicos, privados o para fines de patentamiento.

La CChRGM es una colección de cultivos única en el país y en Sudamérica, ya que posee la categoría de Autoridad Internacional de Depósito (IDA por sus siglas en inglés), otorgada oficialmente en el año 2012 por la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI), estatus que sólo poseen otras 46 colecciones de cultivo en el mundo. La categoría IDA convierte a la CChRGM en un aliado estratégico para dar cumplimiento al Tratado de Budapest, en materia del reconocimiento internacional de depósitos de microorganismos para fines de patentamiento.

A continuación, se describen las implicancias de cada tipo de depósito microbiano que ofrece la CChRGM y los pasos a seguir para realizar un depósito de forma exitosa:

**Depósito público:** el material depositado y la información asociada a éste pueden ser solicitadas por la comunidad científica nacional e internacional, que pertenezcan a instituciones académicas, centros de investigación o industrias. En esta categoría se reciben microorganismos con usos agrícolas, biotecnológicos y de interés general, por ejemplo, microorganismos vinculados a tesis, publicaciones científicas, descripción de cepas tipo o para conservar la diversidad de un lugar bajo amenaza, ya sea por una fuente antrópica o por un desastre natural. La cepa es preservada de forma indefinida y el servicio de depósito es gratuito. El microorganismo quedará disponible en el catálogo público de la CChRGM y puede ser distribuido bajo los términos de un Acuerdo de Transferencia de Material (ATM).

**Depósito privado:** el material depositado y su información pertenecen exclusivamente al depositante o a la institución que deposita y, por tanto, no serán incluidos en el catálogo público de la CChRGM. Corresponden a depósitos realizados por entidades públicas y privadas que quieren resguardar una cepa microbiana que forma parte de algún proceso productivo o de investigación. La cepa es preservada por el tiempo que indique el depositante. Este servicio tiene un costo, el cual se indica en el sitio web [www.cchrgm.cl](http://www.cchrgm.cl).

**Depósito privado para patentamiento:** la CChRGM es una Autoridad Internacional de Depósito, reconocida por la OMPI para el depósito de material microbiológico con propósitos de patentamiento, bajo el Tratado de Budapest. Al igual que en el depósito privado, el material y su información pertenecen exclusivamente a la institución depositante; la CChRGM mantiene en forma estrictamente confidencial los detalles del depósito y la naturaleza del material depositado, por tanto, el microorganismo y su información no serán incluidos en el catálogo público de la CChRGM. Una vez depositado el microorganismo, éste será preservado por al menos 30 años. Este servicio tiene un arancel único, el cual se indica en el sitio web [www.cchrgm.cl](http://www.cchrgm.cl).

Para realizar un depósito microbiano exitoso, el depositante debe seguir una serie de instrucciones. A continuación, se describen los cuatro pasos más importantes para realizar un depósito de un microorganismo en la CChRGM.

## 1. Evaluación de admisibilidad del depósito

En este paso se verifica la información asociada al microorganismo. Para esto, el depositante debe llenar una Forma de Adhesión, la cual se encuentra disponible en la página web de la CChRGM ([www.cchrgm.cl](http://www.cchrgm.cl)). Algunos de los puntos más importantes de esta fase, es que el microorganismo debe cumplir con los siguientes requisitos para ser admitido:

- Pertenecer a los dominios bacteria, archaea y eukarya (hongos), los cuales pueden estar o no modificados genéticamente.
- Especificar la categoría de riesgo biológico del microorganismo, ya que sólo se aceptan microorganismos hasta Grupo de Riesgo 2 de acuerdo a los lineamientos indicados en el Manual de bioseguridad en el laboratorio (OMS, 2005, 3<sup>ra</sup> edición, página 1, ver manual).
- Estar debidamente identificado al menos a nivel de género, mediante técnicas moleculares, por ejemplo, secuenciación de una región específica del ADN,

utilizando cebadores sentido y antisentido para amplificar dicha región. Para el caso de bacterias, se aceptan aquellas cepas identificadas con el gen ARNr 16S y para el caso de hongos con la región intergénica ITS. Para el caso de un depósito público, es una exigencia que se envíe la secuencia del gen utilizado para la verificación de la identificación indicada en la Forma de Adhesión. La CChRGM se reserva el derecho a solicitar más antecedentes sobre el microorganismo, en el caso que la identificación del mismo no sea clara, independiente de la categoría del depósito.

- Debe tener una caracterización morfológica preliminar que permita una rápida verificación de la pureza del cultivo en términos macro y microscópicos.
- Se aceptan microorganismos modificados genéticamente, siempre y cuando se especifique la forma de selección de la cepa modificada. Toda esta información debe estar detallada en el Anexo 1 disponible en la página web de la CChRGM.
- La Forma de Adhesión debe estar firmada por el representante legal de la institución que deposita. Para el caso que haya dos instituciones firmantes, sólo una de ellas debe actuar como el contacto principal.
- El depósito es aceptado, siempre y cuando se hayan revisado todos los campos de la Forma de Adhesión y que toda la información relevante esté incluida en dicho documento.
- Una vez revisado el cumplimiento de los puntos anteriores, se acepta el envío de la cepa microbiana a la CChRGM. Se enviará al depositante un instructivo de envío de muestras, para que el despacho del material microbiológico sea de la manera más adecuada y segura para las personas que manipulan la encomienda durante su traslado.
- La CChRGM no acepta consorcios microbianos debido a la imposibilidad de confirmar la viabilidad de cada uno de los integrantes del mismo. Como "consorcio microbiano" se entiende al conjunto de microorganismos que requieren de la presencia de cada uno de ellos para mantener esta comunidad, la ausencia de uno de ellos significa la desaparición del consorcio o de alguna de las propiedades por las cuales fue seleccionado.
- La CChRGM no acepta mezclas de microorganismos como depósito único. Se entiende como mezcla de microorganismos a las muestras que contienen más de un microorganismo, ya sea de especies conocidas o desconocidas; las mezclas, pueden consistir de un sólo grupo microbiano (por ejemplo, todos hongos) o una mezcla de grupos no relacionados (por ejemplo, hongos y bacterias). Esto responde a que los microorganismos en las mezclas tienen diferentes tasas de crecimiento y

puede existir antagonismo entre ellos. En una mezcla no hay garantías que la composición de ésta permanezca en la misma proporción después de la preservación. Para realizar un depósito en la CChRGM, las mezclas de microorganismos deben ser debidamente separadas por el depositante en cultivos puros y luego consultar la admisibilidad de cada componente, enviando la respectiva Forma de Adhesión.

## 2. Envío del microorganismo a la CChRGM

Una vez que la Forma de Adhesión del microorganismo a depositar haya sido admitida por la CChRGM, el depositante puede enviar el microorganismo por correo postal, siguiendo las siguientes recomendaciones:

- El depositante debe asegurar que el cultivo microbiano crezca puro (cultivo axénico) antes de ser enviado. La CChRGM se reserva el derecho de rechazar cultivos, en el caso de observar la presencia de dos o más microorganismos en el mismo medio de cultivo, o se detecte presencia de artrópodos, o el envase que contiene el cultivo se reciba dañado. En tales casos se emitirá un informe, el cual se enviará al depositante por correo electrónico, indicando las razones del rechazo y solicitando el envío de una nueva muestra.
- Adjuntar al envío la Forma de Adhesión original y firmada por el representante legal de la institución, además del Anexo 1 en el caso de cepas modificadas genéticamente.
- Se reciben cepas como cultivos vivos, ya sea en medio sólido o líquido, o como cultivo liofilizado, lo cual debe ser informado al personal de la CChRGM con antelación.
- Enviar el microorganismo en duplicado y rotular placas o tubos con el código de la cepa especificado en la Forma de Adhesión, la fecha de inicio del cultivo y el nombre del medio de cultivo usado.
- Empacar las placas Petri o vial plástico en doble envase, de forma de evitar deterioro de placas, viales y del sellado.
- El depositante debe verificar que todos los documentos estén adjuntos con el envío.
- El personal de la CChRGM realizará una inspección preliminar del cultivo una vez recibido el mismo. El resultado de la inspección será informado al depositante vía correo electrónico.
- La CChRGM asignará un número de ingreso a la cepa microbiana, el cual no corresponde al número de colección final, (RGM). El número RGM se entrega posterior a la verificación de pureza y viabilidad del microorganismo.

## Para envíos desde el extranjero:

- Antes de enviar el cultivo microbiano, la CChRGM gestionará una autorización de ingreso de material biológico desde el extranjero al Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) y al Instituto de Salud Pública (ISP). Las cartas de autorización emitidas por dichas instituciones serán escaneadas y enviadas al depositante, las cuales deben adjuntarse al envío del microorganismo, junto a la Forma de Adhesión y Anexo 1. Este último sólo en el caso de cepas modificadas genéticamente.
- En el caso que la aduana chilena realice cargos por almacenaje al momento de liberar la encomienda (lo cual normalmente no ocurre), estos serán debidamente informados y, posteriormente, cobrados al depositante. El Certificado de Depósito no será emitido mientras estos cargos no sean cancelados.

## 3. Evaluación de viabilidad y pureza del microorganismo post-preservación

El personal de la CChRGM procederá a evaluar la viabilidad y pureza del microorganismo en dos etapas, primero, al recibir el cultivo y, segundo, posterior al proceso de criopreservación o liofilización. Se informará al depositante el resultado de este paso vía correo electrónico, el cual podría comprender de estos tres casos:

**Caso 1.** Cultivo microbiano se encuentra puro después del subcultivo y viable posterior a ser sometido a un sistema de preservación. En este caso, la muestra se aprueba.

**Caso 2.** Cultivo microbiano no se encuentra puro después del subcultivo. Si después del tercer intento utilizando la muestra original se obtiene un cultivo contaminado, la muestra será rechazada y se dará aviso de inmediato al depositante a quien se le solicitará enviar una nueva muestra. En este caso, la CChRGM no someterá al microorganismo a preservación por no cumplir con los requerimientos mínimos de viabilidad y pureza, ni realizará purificación del microorganismo.

**Caso 3.** Cultivo microbiano no tolera el sistema de preservación. Si después del tercer intento no se observa crecimiento del microorganismo posterior a ser sometido a un sistema de preservación, entonces el microorganismo no será aceptado en la CChRGM por no adaptarse a un sistema de preservación a largo plazo.

## 4. Emisión del Certificado de Depósito

- Finalizado el proceso de verificación de viabilidad y pureza, se emitirá un Certificado de Depósito en el que se especificará el número de colección (RGM) y la fecha de inicio del depósito. Este certificado sirve de respaldo para acreditar el depósito de una cepa microbiana en la CChRGM.
- Antes de emitir el Certificado de Depósito, se enviará un borrador para que el depositante revise los antecedentes.
- En el caso de un depósito público, el número de colección y el Certificado de Depósito es entregado después de verificar pureza y viabilidad del microorganismo.
- En el caso de un depósito privado o para fines de patentamiento, el número de colección y el Certificado de Depósito serán entregados una vez confirmado el pago por el servicio de depósito.

## Consideraciones generales sobre el depósito de microorganismos en la CChRGM

- Cuando una cepa es recepcionada por el personal de la CChRGM, se le asigna un número de ingreso de cepa, el que no corresponde al número de colección (RGM) que se entrega al final del proceso.
- La CChRGM no entrega de forma provisional números de colección. Este número se entrega una vez finalizado el proceso de depósito en el caso de los ingresos públicos, o hasta que se verifique el pago por el servicio de preservación en el caso de los depósitos privados y privados con fines de patentamiento.
- La CChRGM sólo acepta pago de servicio de depósito mediante transferencia bancaria. Para el caso de un servicio de depósito microbiano solicitado desde el extranjero, los cargos de transferencia realizados por el banco son de exclusiva responsabilidad de la entidad depositante.
- Los idiomas oficiales de la CChRGM son el español e inglés.
- Una muestra del cultivo microbiano sólo puede ser enviada a la CChRGM siempre y cuando se haya notificado al depositante, mediante un correo electrónico, la autorización explícita de envío. El depositante, a su vez, deberá notificar a la CChRGM el día en que se envió la muestra y un número de seguimiento de la encomienda.

- El envío del Certificado de Depósito es gestionado y pagado por la CChRGM. La fecha de depósito del microorganismo corresponde a la fecha en que la CChRGM recibe el microorganismo viable en sus dependencias.
- En caso que la muestra microbiana no cumpla los requerimientos mínimos de ingreso, se solicitará una nueva muestra al depositante, el cual deberá incluir una nueva Forma de Adhesión firmada por el representante legal de la institución. No se reprocesarán muestras si no llega este documento original.
- Si un microorganismo es enviado a la CChRGM para otros fines, por ejemplo, identificación molecular, y luego el depositante solicita realizar el depósito del microorganismo en alguna de las categorías de depósito disponibles, la fecha de depósito no corresponderá a la del primer propósito, sino que se usará la fecha de recepción de la solicitud de depósito.
- En el caso de un depósito privado o privado para fines de patentamiento, si los derechos del depositante son vendidos o cedidos a un tercero, o bien cambia el nombre del depositante, el depositante original (o su sucesor) deberán notificar a la CChRGM de este cambio. A su vez, se contactará a ambas partes para solicitar una confirmación por escrito de tales cambios.
- El depósito de un microorganismo en la CChRGM, es reconocido como válido por todos aquellos estados contratantes del Tratado de Budapest.
- Aquellos depósitos con fines de patentamiento que hayan cumplido los 30 años de preservación, la CChRGM hará la consulta a la entidad depositante sobre cuáles son los pasos a seguir con respecto al depósito. Entre las posibles opciones están: renovar por otros 30 años, cambiar su condición a depósito público o privado, o la eliminación de la cepa.
- Se solicita al depositante realizar el depósito del material microbiano con tiempo.

La CChRGM está preparada para recibir depósitos de cualquier país del mundo, y pretende ser un apoyo para el investigador o entidad que solicite preservar material genético microbiano a mediano y largo plazo.



Permitida la reproducción total o parcial de esta publicación citando la fuente y autores.

Autores: Jean Franco Castro, Dr., Curador, Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos / jean.castro@inia.cl

INIA Quilmapu, Av. Vicente Méndez 515, Chillán - Fono: (56) 42 220 6800

[www.inia.cl](http://www.inia.cl)

Año 2020  
INFORMATIVO Nº 149

