

# Caracterización del biodeterioro en películas cinematográficas de interés patrimonial en Cuba

Vivar, I.<sup>2</sup>, García, A.M.<sup>1</sup>, Borrego, S.F.<sup>2</sup>, Moreno, D.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Politécnica de Madrid, Departamento de Ingeniería y Ciencia de los Materiales, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales, José Gutiérrez Abascal 2, Madrid E-28006, Spain

<sup>2</sup> Archivo Nacional de la República de Cuba, Compostela 906 e/ San Isidro y Desamparados, Habana Vieja 10100, Ciudad de La Habana, Cuba  
(Autor responsable: ana.garcia.ruiz@upm.es)

## Introducción

La conservación del patrimonio cultural constituye una actividad de vital importancia para salvaguardar nuestra identidad, así como para transmitir conocimientos sobre hechos históricos de gran importancia. Las obras de arte y los documentos, son testimonio de lo acontecido en nuestro pasado y presente por lo que su preservación a lo largo del tiempo es vital para las futuras generaciones. Se ha observado, en repositorios cinematográficos, que la contaminación microbiana ambiental puede deteriorar las películas cinematográficas [1]. El objetivo del presente trabajo es identificar los microorganismos que deterioran las películas cinematográficas del Patrimonio Documental de Cuba mediante técnicas biotecnológicas y microscópicas para después establecer una política de conservación certera en la institución.

## Metodología

En el Instituto Cubano de Arte e Industria Cinematográfica de Cuba (ICAIC) se tomaron muestras de 4 películas cinematográficas de interés patrimonial que se encontraban deterioradas. La composición de estas películas es de acetato de celulosa y en una de sus caras posee una emulsión de gelatina.

Las películas sin procesar se observaron al microscopio electrónico de barrido ambiental (ESEM) (INSPECT, QUANTA 200) y tras un proceso de fijación, deshidratación, punto crítico y metalizado con oro, se observaron con el microscopio electrónico de barrido (SEM) (DSM 960, Zeiss) para ver, en ambos casos, el grado de biodeterioro del soporte y el tipo de microorganismos colonizadores. Para el estudio de la viabilidad microbiana se empleó el LIVE/DEAD FungaLight Yeast Viability Kit (Molecular Probes) mediante la técnica de microscopía de epifluorescencia.

La identificación de los microorganismos colonizadores se llevó a cabo mediante técnicas tradicionales de aislamiento y cultivo en placa de diferentes medios de cultivo. El ADN de los hongos se extrajo utilizando el kit DNEasy Plant Mini Kit, (QIAGEN) y una vez purificado se amplificó mediante PCR la región ITS [2]. En el caso de las bacterias la extracción del ADN se efectuó mediante un proceso cíclico de congelación-descongelación (-70 °C - +60 °C) y se amplificó un fragmento del gen 16SrDNA mediante PCR [3]. Los fragmentos amplificados se secuenciaron utilizando el BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) en un secuenciador automático (ABI Prism 310 Genetic Analyzer, Applied Biosystems).

Para la identificación de los microorganismos no cultivables se llevaron a cabo técnicas de clonaje en una de las películas. Para la extracción del ADN total se utilizaron los kits DNEasy Plant Mini Kit (QIAGEN) y High Pure PCR Template Preparation Kit (ROCHE) para las especies fúngicas y bacterianas, respectivamente. Una vez amplificada la región ITS de los hongos y el fragmento del gen 16SrDNA de las bacterias se llevaron a cabo las reacciones de ligamiento y de transformación para el clonaje utilizando el TOPO TA Cloning® Kit for Sequencing (INVITROGEN). La transformación se llevó a cabo en las células proporcionadas por el kit, *Escherichia coli* (One Shot® TOP10 Competent Cells). Para comprobar la presencia del inserto fúngico o bacteriano en el vector de clonaje se efectuó una PCR con cebadores específicos. Posteriormente, los insertos fueron secuenciados automáticamente.

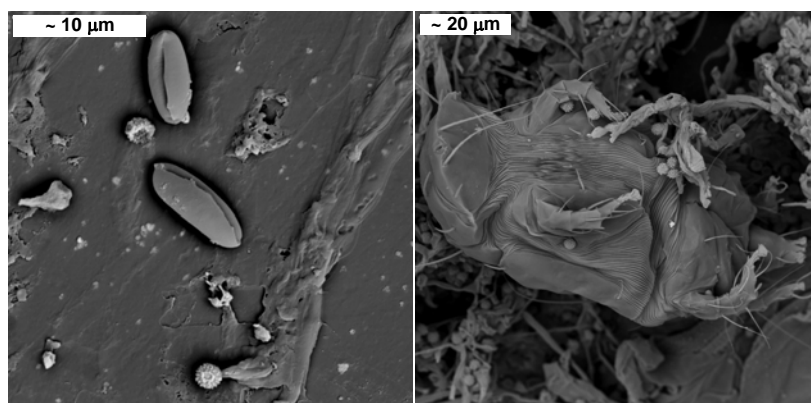
## Resultados y discusión

En todas las muestras se observó una importante colonización fúngica por ambas caras de la película (Fig. 1), si bien el grado de colonización varió de unas películas a otras.



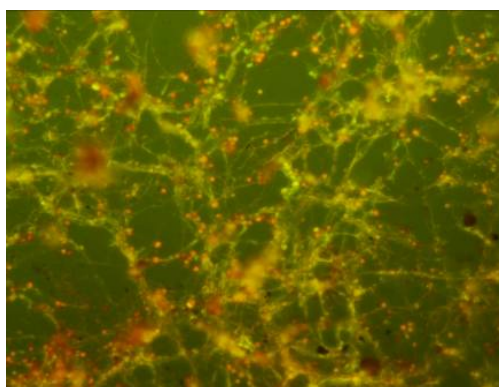
**Figura 1.** Micrografía ESEM de una película en la que se observa la abundante colonización fúngica.

También, se detectó, en menor grado, la presencia de bacterias, restos de pólenes y ácaros que forman parte del bioensuciamiento de las películas (Fig. 2).



**Figura 2.** Micrografía SEM de dos de las películas en las que se observa el bioensuciamiento.

Se comprobó que parte de los hongos que se encuentran colonizando las películas cinematográficas aún están activos y por tanto pueden seguir ejerciendo su efecto perjudicial sobre los soportes en estudio (Fig. 3). La proporción de hongos vivos/muertos varió en función de la película observada.



**Figura 3.** Imagen de una película teñida con el LIVE/DEAD FungalLight Yeast Viability Kit en la que se observa la viabilidad de los hongos que la colonizan (en verde los activos y en rojo los muertos).

Entre los microorganismos identificados aparecen diferentes especies de los géneros fúngicos *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium* y bacterianos *Bacillus*, *Staphylococcus*, y *Arthrobacter*.

### **Conclusiones**

Se emplearon por primera vez técnicas moleculares, de microscopía electrónica y de epifluorescencia para la identificación de los microorganismos que deterioran películas cinematográficas del patrimonio documental cubano con el fin de poder establecer estrategias de prevención y conservación certeras según las características climáticas del país.

### **Bibliografía**

- [1] Abrusci, C., Martín-González, A., Del Amo, A., Catalin, F., Collado, J., Platas, G. "Isolation and Identification of bacteria and fungi from cinematographic films". *Internacional Biodeterioration and Biodegradation* 56 (2005) 58-68.
- [2] Michaelsen, A., Pinzari, F., Ripka, K., Lubitz, W., Piñar, G. "Application of molecular techniques for identification of fungal communities colonising paper material". *Internacional Biodeterioration and Biodegradation* 58 (2006) 133-141.
- [3] Gurtner, C.; Heyrman, J.; Piñar, G.; Lubitz, W.; Swings, J.; Rölleke, S. "Comparative analyses of the bacterial diversity on two different biodeteriorated wall paintings by DGGE and 16S rDNA sequence analysis". *International Biodeterioration and Biodegradation* 46 (2000) 229-239.

### **Agradecimientos**

Al Programa de Becas UNESCO en virtud de los Programas Prioritarios (2010-2011) (Request Nº 714-1) y al Programa de Ayudas de la Universidad Politécnica de Madrid para realizar actividades con América Latina (Red Temática sobre Biodeterioro del Patrimonio Histórico y Cultural, Ref. AL11-RT-01).