

Vitrofulal

El VITROFURAL® se presenta como un inhibidor de la contaminación microbiana en los medios de cultivos para la producción masiva de vitroplantas, que sustituye el proceso convencional de esterilización por autoclave. Se envasa en frascos de 6 g, color ámbar, con tapa plástica de rosca y envases secundarios en cajas de cartón de 10 frascos. La concentración recomendada de VITROFURAL® en el medio de cultivo es de 116 mg/L, por lo que con los 6 gramos pueden ser preparados 50 L de medio de cultivo. La fecha de vencimiento es de 5 años a partir de la fecha de fabricación, manteniéndose protegido de la luz y la humedad. El producto se acompaña de una declaración de conformidad con sus especificaciones de calidad, correctamente elaboradas e implantadas según la norma cubana NC 1090:2015. El VITROFURAL® fue registrado en Cuba con el número de permiso 013/99 en 1999, donde su empleo se ha hecho extensivo a todas las biofábricas de la empresa Productora y Comercializadora de Semillas del Ministerio de la Agricultura, así como en Centros que laboran en la esfera de la biotecnología agrícola dentro de los que se destacan el Centro de Bioplasmas y el Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP), con excelentes resultados en la micropropagación de papas, plátano, papaya, banano, caña de azúcar, piña, malanga y forestales, entre otros. Su eficacia ha sido verificada en 29 laboratorios de América Latina en medios de cultivo de papa, plátano, ajo, cítricos, cerezos, arándanos, crisantemos y caña de azúcar. El producto actualmente se encuentra en uso en Instituciones de México, Chile, Perú, Ecuador y Brasil, como muestra evidente de las ventajas que representa su utilización con respecto al método tradicional de esterilización por autoclave.

El éxito de los sistemas de propagación de plantas por biotecnología depende en gran medida del control y prevención de la contaminación microbiana, el cual continúa siendo uno de los principales y más severos problemas para los micropropagadores de plantas en el mundo. En la lucha por prevenir o eliminar la contaminación microbiana en el cultivo in vitro de plantas se han ensayado y puesto en práctica diferentes alternativas que van desde el incremento de las medidas de asepsia y el tratamiento de las plantas donantes, hasta el subcultivo de las plántulas en medio de cultivo con productos antimicrobianos de origen sintético o natural. Las investigaciones desarrolladas por el Centro de Bioactivos Químicos de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas(Cuba), dieron por resultado la obtención de un formulado denominado comercialmente VITROFURAL®, dispersión sólida que contiene al 1-(5-bromo-fur-2-il)-2-bromo-2-nitroeteno (Furvina) como ingrediente farmacéutico activo al 30 %, que como primera característica tiene efecto bactericida y fungicida de amplio espectro, probado en los principales contaminantes que se presentan en el cultivo in vitro, en concentraciones que no sobrepasan los 35 mg/L del ingrediente farmacéutico activo. La otra gran ventaja de este producto, y que ha sido la limitante más importante para el empleo de otros esterilizantes químicos, es que no presenta efecto fitotóxico a la concentración que controla la contaminación. El Instituto de Biotecnología de las Plantas (Villa Clara, Cuba), constituye la biofábrica de referencia y ofrece cursos y entrenamientos donde se incluye la capacitación en el empleo del VITROFURAL® como una de las vías para el incremento de la eficiencia en los procesos de micropropagación de plantas. Además brinda Asesoría Técnica para la introducción del VITROFURAL® que garanticen resultados satisfactorios en las instalaciones del productor.

Producido por:

Centro de Bioactivos Químicos. Ministerio de Educación Superior. Dirección: Carretera a Camajuaní km 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba **Teléfonos:** (53) 42281192, (53) 42281473, (53) 42281130 **Directora General:** Dra. Zenaida Rodríguez Negrín
E-mail: zenaidar@uclv.edu.cu
Especialista Comercial: MSc. Raquel Hernández González
E-mail: raquelf@uclv.edu.cu
Sitio Web: www.cbq.uclv.edu.cu

Composición: Para 100 gramos:

- 1-Furvina 30 gr
- 2-Excipiente c. s.

Tipo de Formulación: Polvo

Acción: Bactericida de amplio espectro y fungicida.

Indicaciones: Inhibidor de la contaminación microbiana para medios de cultivo utilizados en la producción de vitroplantas que sustituye el proceso de esterilización por autoclave.

Concentración recomendada: 116/L de VITROFURAL®, que significan 35 mg/L de principio activo.

Conservación: Almacénese protegido de la luz y la humedad.

Presentación: Envases de 10 frascos de 6g/unidad.

Intoxicaciones: No se han reportado casos.

Mecanismo de acción: Su mecanismo de acción difiere de los bactericidas y fungicidas actuales. La furvina inhibe el crecimiento bacteriano inhibiendo la síntesis de proteínas, tanto in vitro como in vivo. El descubrimiento de que es un inhibidor específico del sitio P de la subunidad 30S, promete incrementar el arsenal capaz de bloquear selectivamente los pasos iniciales de la síntesis de proteínas en bacterias. (Fabbretti, Brandi et al. 2012)

Fabbretti, A., L. Brandi, D. Petrelli, C. L. Pon, N. R. Castanedo, R. Medina and C. O. Gualerzi (2012).

"TheantibioticFurvina(R) targets the P-site of 30S ribosomal subunits and inhibitstranslationinitiationdisplayingstartcodonbias." NucleicAcids Res 40(20): 10366-10374.

Ventajas:

- 1-Reduce los índices de contaminación microbiana.
- 2-Sustituye el proceso de esterilización por autoclave.
- 3-Produce un ahorro significativo ($\approx 30\%$) del consumo de energía eléctrica.
- 4-Reduce las cantidades de Agar necesario en un (40 -50) %.
- 5-Incrementa la productividad en el área de medios de cultivo y mejora las condiciones de trabajo.
- 6-A la concentración que controla la contaminación no provoca fitotoxicidad en los tejidos.

Modo de empleo: Los medios de cultivo deben elaborarse teniendo en cuenta las siguientes instrucciones:

1-Fregado de los frascos de cultivo y tapas: Esta operación se realiza fregando frascos y tapas con abundante agua y luego con una solución de detergente comercial. Se enjuaga primero con agua común y posteriormente con solución de Hipoclorito de Sodio al 0,05% en agua desionizada y se trasladan hacia un local con ambiente limpio para su uso inmediato.

2-Elaboración de los medios de cultivo: Para la elaboración de los medios de cultivo, el empleo de las soluciones madres y la dosificación de estas se siguen los mismos pasos que para los medios esterilizados por autoclave. Después de ajustar el pH del medio de cultivo, este se calienta adicionando lentamente el gelificante, hasta su completa disolución. Para medios sólidos, la dosis de gelificante será entre un 40%-50 % de la empleada en la esterilización por autoclave. Se hierve durante 5 minutos, siendo importante que todo el medio de cultivo hierva. Para incorporar el VITROFURAL® se espera a que el medio de cultivo tenga una temperatura aproximada entre 80°C-85°C.

Se recomienda dispersar primeramente el VITROFURAL® en una pequeña cantidad de medio de cultivo y luego incorporar al resto del medio agitando vigorosamente para lograr una homogeneización total y evitar la sedimentación del producto.

3-Condiciones esenciales para su empleo: El personal debe emplear ropa estéril, incluyendo gorro y nasobuco, desinfectarse las manos con alcohol al 70 % antes y durante la dosificación, así

como cumplir con las buenas prácticas de producción para el trabajo en áreas asépticas. Se deben utilizar gafas de protección para evitar irritación en los ojos en caso de salpicaduras. Después de elaborado, el medio se trasladará inmediatamente hacia el área aséptica, donde se realiza la dosificación del medio en los frascos de cultivo.

4-Dosificación: La dosificación del medio de cultivo se puede realizar de forma manual o mecánica. Durante el proceso se agita frecuentemente para evitar la sedimentación del VITROFURAL®, tapando inmediatamente los frascos después de la dosificación. Cuando utilice un dispensador automático, este se lavará previamente con agua bien caliente (80°C-90°C) para eliminar posibles suciedades acumuladas en los conductos. Es importante mantener un máximo grado de asepsia.

5-Almacenamiento y utilización: El medio de cultivo se almacena en el cuarto de medios de cultivo dentro del área aséptica. La temperatura no excederá los 24°C. En caso de no contar con estas condiciones se almacena en un lugar fresco y limpio hasta el momento de su utilización. Se utilizará posterior a las 12 h de haberse elaborado y enfriado, excepto en la micropropagación de papas que es necesario esperar 24 h. No se debe esperar un tiempo superior a las 24 h debido a que el producto se degrada progresivamente en el medio de cultivo.

Recomendaciones:

1-Se recomienda evitar la inhalación del producto o el contacto con la piel, ojos y mucosas; por lo que deberán emplearse medios de protección personal (batas sanitarias, gafas de protección y nasobuco) para su manipulación.

2-Tener en cuenta que en el control y prevención de la contaminación microbiana durante la producción de vitroplantas influyen además factores como el diseño arquitectónico de los locales de trabajo, la procedencia y edad del explante inicial, la higiene ambiental o la habilidad y preparación técnica de los operarios. El Instituto de Biotecnología de las Plantas, Villa Clara, Cuba, ofrece servicios de asesoría técnica que incluyen la experiencia de sus especialistas en el uso del VITROFURAL®.

Patentes: La patente del producto Composición microcida para el control de contaminantes de medios de cultivo para vitroplantas, fue concedida en: Cuba No 22677, EE. UU No 6,316,014B1, Europa 0920804, México No 215995 y Brasil No PI9709932-5.

Testimonios:

La introducción del VITROFURAL® en el proceso de producción de vitroplantas en las Biofábricas de la Empresa productora y comercializadora de semillas del MINAG desde el año 1999 ha tenido una gran repercusión en el mejoramiento de algunos índices fundamentales que conllevan a optimizar la utilización de la fuerza de trabajo y a humanizar dicho proceso. Entre los índices que han experimentado cambios, podemos señalar:

- 1-Coeficiente de multiplicación: Aumento entre 0.3 a 0.5 dependiendo del clon.
- 2-Porciento de contaminación: Disminuye un 2 % hasta et noveno día.
- 3-Ahorro de Agar: Se ahorra un 35% en et medio de cultivo lo que significa un ahorro de 460.00 USD por millón de vitroplantas.
- 4-Consumo de electricidad: Se ahorra un 30 % por no tener que usar las autoclaves para la esterilización, que equivale aproximadamente a 330 MWh al año.
- 5-Aumento del salario por estimulación: Los trabajadores se han visto beneficiados ya que el uso del VITROFURAL® incide en dos de los índices que determinan la cuantía de la estimulación.
- 6-Según nuestros cálculos, la introducción de este compuesto ha disminuido los gastos para producir un millón de vitroplantas en aproximadamente 4000.00 USD.

Dra. María Adela Jiménez Velasco
Especialista de Biofábricas
Empresa Productora y Comercializadora de Semillas

"Desde el año 2004 que fue introducido el VITROFURAL® al proceso productivo del Centro de Bioplasmas se han producido millones de vitroplantas con el uso de este producto con excelentes resultados. Entre las ventajas se encuentran: Aumento del coeficiente de multiplicación en los cultivos y Disminución de los costos de producción basados en la eliminación de las autoclaves lo que conllevó al ahorro de energía eléctrica, disminución de la mano de obra en la elaboración de medios de cultivo, aumento de la productividad con el uso de frascos de cultivo con mayor capacidad, aumento de la capacidad de producción en cámaras de cultivo debido a la ubicación de los frascos de cultivo, aumento de la eficiencia productiva de los operarios de flujo laminar de una norma 1500 exp/op/día a 2500 exp/op/día."

Dr. C. Oscar V. Concepción Laffitte
Investigador Agregado
Centro de Bioplasmas

"Desde la introducción del empleo de la esterilización química de los medios de cultivo mediante VITROFURAL® se aprecia un ahorro considerable de energía eléctrica al sustituir el empleo de la esterilización por autoclave permitiendo ahorrar 190.5 MW. Se ha reducido en un 46 % el consumo de agar pues al no tener que someter el medio de cultivo al calor no se altera la estabilidad de esta sustancia. Se comprobó que posibilita un incremento de 30 % del crecimiento del material in vitro ya que mejora la calidad del medio de cultivo, la preparación del medio es más rápida y eficiente, el medio puede ser empleado 24 horas posterior a su preparación y el tiempo empleado en autoclavar los medios se emplea en la dosificación y otras tareas. Se disminuyen los índices de contaminación y las pérdidas totales lográndose un control más efectivo de los principales contaminantes fungos. Permite un ahorro de la fuerza de trabajo y una humanización en el área de preparación de los medios de cultivo, pues elimina las fatigosas jornadas de exposición al calor que desprenden las autoclaves y elimina los riesgos por quemaduras."

Ing. Claudio Pérez Bravo
Director General
Establecimiento Biofábrica de Villa Clara

"El VITROFURAL® se ha utilizado en la producción de vitroplantas de los cultivos plátano, malanga, ñame y piña con excelentes resultados. Su utilización ha significado una disminución notable de los índices de contaminación y por consiguiente de las pérdidas de material vegetal. Al prescindir de la esterilización por autoclaves se disminuyó el consumo de electricidad. Se aprecia un ahorro del 33 % del agar. Con el uso del VITROFURAL® no se han observado daños a los explantes ni al hombre."

Ing. José Maceo Martí
Director General
Biofábrica de Granma

"Es de gran importancia el uso de VITROFURAL® en la esterilización de los medios de cultivo por las ventajas que este método de esterilización aporta entre las que tenemos que se logra un estímulo en el crecimiento de las plantas micropropagadas, aumenta el coeficiente de multiplicación, disminuye el esfuerzo físico de los trabajadores del área de medios de cultivo, aumenta la capacidad productiva y se reducen las pérdidas totales por contaminación microbiana en la biofábrica aumenta la eficiencia del proceso productivo y provoca un ahorro considerable de gelificantes y energía eléctrica al prescindir de las autoclaves."

Msc. Zoe Sarría Hernández
Directora de Producción
Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP)

Asesoría técnica: Ofrecemos asesoría técnica para la modificación de un procedimiento o proceso para la aplicación del Vitrofural como desinfectante químico en los procesos de preparación de medio de cultivo para la propagación masiva de plantas.

Localíenosenos:

Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas

Dirección: Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830

Teléfono: 53 (42) 281693

E-mail: info@ibp.co.cu

Sitio Web: www.ibp.co.cu