

**PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD DEL PROYECTO
FONDECYT POSTDOCTORADO N° 3170744**

Disease Resistance in Atlantic Salmon: Understanding mechanisms that explain resistance and tolerance to co-infection of the Sea Lice *Caligus rogercresseyi* and the bacteria *Piscirickettsia salmonis*.

INVESTIGADOR RESPONSABLE:
Carolina Andrea Figueroa Toledo

Antecedentes de Bioseguridad Generales:

Los laboratorios que se utilizarán para desarrollar este estudio cumplen con las normas de bioseguridad establecidas por la Escuela de Ciencias del Mar de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Estas normas de bioseguridad han sido elaboradas en base a los procedimientos de bioseguridad del Manual de Normas de Bioseguridad de CONICYT (2008) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

En este proyecto se utilizará Salmón del Atlántico, que se expondrá a la co-infección por organismos patógenos. Los patógenos serán *Caligus rogercresseyi*, un ectoparásito marino clasificado en el nivel 2 de bioseguridad por el Comité Técnico del Reglamento Sanitario de Salud Animal de Especies Hidrobiológicas (RESA) y la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, clasificada en el nivel 2 de bioseguridad por ATCC, ambos patógenos han sido clasificados en el Grupo de riesgo 2 de la OMS. El uso de estos organismos se desarrollará en un centro experimental autorizado por el Servicio Nacional de Pesca, las condiciones de este centro impiden la propagación de los agentes infecciosos y preservan el cuidado del medio ambiente. El centro experimental cuenta con procedimientos de bioseguridad establecidos que regulan el uso y eliminación de agentes infecciosos, muestras biológicas y residuos, existiendo registros de los procedimientos.

Nuestro laboratorio cuenta con protocolos para el adecuado uso de organismos clasificados en nivel 2 y el laboratorio dispone de áreas separadas para manipulación y procesamiento de muestras.

Químicos con potencial riesgo biológico

Se utilizará Trizol para la extracción de ARN, este compuesto es altamente tóxico, será utilizado bajo campana de extracción para evitar el contacto por inhalación, para su manipulación se utilizarán guantes, mascarillas y antiparras, posteriormente será eliminado de acuerdo a las normas de eliminación dispuestas por la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.



Medidas de contención de los laboratorios

Las medidas de contención de bioseguridad que se utilizarán serán de nivel 1 .

Barreras primarias de contención

- Se utilizará delantal exclusivo durante todo el trabajo de laboratorio, se almacenará en armarios o casilleros distintos de donde se guarde la ropa de calle, además estará prohibido utilizar el delantal en áreas fuera del laboratorio.
- Se utilizarán mascarillas, guantes y gafas de seguridad durante la manipulación de los microorganismos fuera del gabinete de bioseguridad.
- Se utilizarán mascarillas, guantes y gafas de seguridad durante la manipulación de reactivos nocivos para la salud. Los guantes se utilizarán durante todo el procedimiento de laboratorio, evitando contaminar las superficies limpias, una vez finalizado el uso de los guantes, estos serán descartados y se lavarán las manos. El uso de gafas de seguridad se realizará cuando se requiera proteger los ojos y rostro de salpicadura.
- Se utilizará una cabina de bioseguridad para la manipulación de material infeccioso. Después de la manipulación de materiales y organismos infecciosos y antes de salir del laboratorio, se deberán lavar cuidadosamente las manos.
- Se utilizará siempre calzado con puntera.
- La descontaminación y desinfección del material de laboratorio se realizará con solución de hipoclorito de sodio concentrada y etanol 70%.
- La limpieza de los mesones de trabajo se realizará con solución de hipoclorito de sodio 1%, al iniciar cada jornada de trabajo, cuando se producen derrames de material infeccioso y al finalizar el trabajo.
- El piso del laboratorio se mantendrá libre de cajas y artículos que bloqueen el paso, además se limpiará diariamente.
- En el caso en que el personal de laboratorio exponga su piel o mucosas a contaminantes, deberá lavar con abundante agua la zona afectada y luego consultar a un médico.
- El laboratorio contará con soluciones tópicas de povidona yodada o alcohol yodado para una rápida desinfección de la piel
- Estará prohibido consumir y/o almacenar alimentos en las zonas de trabajo del laboratorio.
-

Barreras secundarias de contención

La contención secundaria contempla la protección al medio ambiente externo al laboratorio, de la exposición a riesgos, esta se logra mediante una combinación entre el diseño del laboratorio y las prácticas operativas.

- El laboratorio deberá tener un diseño que favorezca la limpieza de equipos y mesones. Las superficies de las paredes, techos y suelos deberán ser lisos, fáciles de limpiar, impermeables a los líquidos y resistentes a los productos químicos y desinfectantes que se utilizan en laboratorio. Los suelos deberán ser antideslizantes.
- Las superficies de trabajo deberán ser impermeables y resistentes a soluciones desinfectantes, ácidas, alcalinas, disolventes orgánicos y al calor moderado.
- El laboratorio deberá poseer una adecuada iluminación, se deberán evitar los reflejos y brillos.



- El mobiliario debe ser firme y debe quedar espacio entre y debajo de los muebles para permitir la limpieza.
- Se evitará la acumulación de material sobre los mesones de trabajo, se dispondrán lugares para el almacenamiento de material a corto y largo plazo.
- Existirá un lugar apropiado para alimentación fuera del laboratorio.
- El diseño y distribución del laboratorio deberá permitir el manejo unidireccional de las muestras.
- Las muestras y material contaminado deberán descontaminarse por métodos químicos o físicos, antes de eliminarse a la basura común.

Barreras microbiológicas

- Se utilizarán gabinetes de bioseguridad de clase II
- Los desechos infecciosos serán descontaminados mediante autoclave.
- El agua de descarga será tratada y esterilizada.
- Se utilizarán guantes durante todos los procedimientos, de manera permanente, evitando contaminar áreas limpias.
- La limpieza del material común y mesones de trabajo se realizará con solución de hipoclorito de sodio 1%.
- La descontaminación y desinfección del material de laboratorio se realizará con solución de hipoclorito de sodio concentrada y etanol 70%.

Medidas de Seguridad con compuestos potencialmente cancerígenos, mutagénicos o teratogénicos

- Los desechos serán depositados en recipientes herméticos, se rotularán en detalle su contenido y se mantendrán cerrados.
- Las hojas de seguridad que contienen el detalle técnico de los reactivos, se almacenarán en una carpeta y deberán leerse previamente por las personas que los manipularán.
- Durante la manipulación de estos compuestos, siempre se utilizará mascarilla, guantes y delantal.
- El material utilizado en los experimentos será desechado a través de la bodega central de reactivos del Instituto de Química que cuenta con procedimientos para la eliminación de sustancias peligrosas.

Medidas de bioseguridad en el trabajo con animales de experimentación.

- Los animales de experimentación estarán dispuestos en estanques aislados con recirculación
- La descontaminación de recipientes y desperdicios se realizará mediante autoclave.
- La limpieza de las salas y los estanques se realizará utilizando soluciones yodadas
- El agua de descarga de los estanques se tratará con filtración mecánica y cloración



Delimitación de espacios físicos para el desarrollo de experimentos

Laboratorio Aquagenetics de PUCV y de la Universidad de Valparaíso: Laboratorios implementados para la investigación en biología molecular y ensayos bioquímicos. Cuenta con diversas áreas de trabajo aisladas: Sala de Pre-PCR, Sala Post-PCR, Sala de cultivo-manejo de microorganismos con gabinetes de bioseguridad clase I y II, Sala de reactivos, preparación de medios, autoclave, etc.

Centros de experimentación: Centro Experimental Quillaípe de la Fundación Chile, ubicado en la ciudad de Puerto Montt.

