

INFORME DE BIOSEGURIDAD
FONDECYT POSTDOCTORADO N.º 3210502

Título del Proyecto: Cuerpos de inclusión como inmunoestimulantes de administración oral para el control de *Piscirickettsia salmonis* en Salmón del Atlántico.

Investigador Responsable: Dra. Débora Torrealba Sandoval.

Antecedentes de Bioseguridad Generales

Los Laboratorio de Genética y Genómica Aplicada, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular y Laboratorio de Cultivo de Células Microbianas cumplen con las normas de bioseguridad establecidas por el Escuela de Ciencias del Mar, Instituto de Biología y Escuela de Ingeniería Bioquímica 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 y Riesgos Asociados FONDECYT – CONICYT/ANID (2021) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

En este proyecto se utilizará Salmón del Atlántico (*Salmo salar*), que se expone a la infección con la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, clasificada en el nivel 2 de bioseguridad por ATCC, y clasificado en el grupo de riesgo 2 de la OMS. Además, para el desarrollo de las proteínas recombinantes se utilizará *Escherichia coli* L21(DE3)pLysS nivel 1 de bioseguridad por ATCC. Los laboratorios que participaran en este proyecto cuentan con los protocolos para el adecuado uso de los organismos clasificados en nivel 1 y 2 de bioseguridad y disponen de áreas separadas para la manipulación y procesamiento de muestras. Los ensayos con peces se realizarán en el Laboratorio Experimental de Acuicultura de la Escuela de Ciencias del Mar de la PUCV contratado como servicio.

Químicos con potencial riesgo biológico

Se utilizará TriReagent (Sigma) para la extracción de ARN, este compuesto es altamente tóxico. Por lo cual será utilizado bajo campana de extracción para evitar el contacto por inhalación. Además, para su manipulación se utilizará guantes, mascarilla, antiparras y delantal, posteriormente el reactivo y los elementos en contacto directo con reactivo serán eliminados 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 utilizará serán de nivel 1 y 2.

Barreras primarias de contención

- Se utilizará delantal exclusivo durante todo el trabajo de laboratorio, se almacenará en armarios 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 antiparras de seguridad durante la manipulación de los microorganismos fuera del gabinete de seguridad.
- Se utilizarán mascarillas, guantes y antiparras 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 guantes estos serán descartados y se lavarán las manos. El uso de gafas de seguridad se realizará cuando se requiera proteger los ojos y el rostro de salpicaduras.

- La descontaminación y desinfección del material de laboratorio se realizará con solución de hipoclorito de sodio concentrado y etanol al 70%. Los materiales en contacto con microorganismo serán autoclavados.
- La limpieza de los mesones de trabajo se realizará con solución de hipoclorito de sodio 1%, al iniciar cada jornada de trabajo, cuando se produzcan derrames de material infeccioso y al finalizar el trabajo.
- En el caso de que el personal de laboratorio exponga su piel u ojos 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 la rápida desinfección de la piel.

Barreras microbiológicas

- Se utilizarán gabinetes de bioseguridad clase II tipo A2 (protección de usuario y producto).
- Los desechos infecciosos serán descontaminados mediante autoclave.
- Se utilizarán guantes durante todos los procedimientos de manera permanente evitando contaminar áreas limpias.
- La limpieza de 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 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 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 manipulan.
- 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 serán dispuestos en estanques aislados en sistemas de recirculación independientes. Los sistemas de recirculación cuentan con biofiltros mecánicos y sistemas de tratamiento UV.
- La descontaminación de recipientes se realizará mediante autoclave.
- La limpieza de las salas y los estanques se realizará utilizando soluciones yodadas.
- El agua de la descarga de los estanques se tratará con filtración mecánica y cloración.

Delimitación de espacios físicos para el desarrollo de experimentos

El Laboratorio de Genética y Genómica Aplicada: Cuenta con espacios implementados para técnicas de biología molecular y ensayos bioquímicos. Sala de PCR y sala de ensayos bioquímicos.

Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular: Tiene espacios implementados para técnicas de biología molecular y ensayos bioquímicos. Sala de PCR, sala de ensayos bioquímicos, sala de

cultivo de microorganismos a pequeña escala, campana de extracción para el trabajo con reactivos tóxicos y campana de flujo laminar para el trabajo con microorganismos.

Laboratorio de Cultivo de Células Microbianas: Espacios implementados para cultivo microbiano en biorreactores con agitadores orbitales con control de temperatura y zona para purificación de proteínas recombinantes. Este laboratorio cuenta con protocolos para el adecuado manejo de microorganismos, posee ambiente limpio mediante filtro HEPA 99.9% de retención de partículas, sistema de circulación de aire que genera ambiente de presión positiva y posee doble puerta; se cuenta con dos cabinas de bioseguridad CLASE II tipo A2 (protección de usuario y producto) en el cual se realiza el manejo de los microorganismos.

Laboratorio Experimental de Acuicultura: Posee espacios para la climatización de animales, salas de desafío, sala de monitoreo y control. Además, cuenta con una sala de esterilización de material. Además, posee una zona destinada a albergar los sistemas de tratamiento de agua.