

PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD A CONSIDERAR EN EL DESARROLLO DEL PROYECTO FONDECYT REGULAR 2014

PROYECTO:

Disease Resistance in Salmonids: Genetic analysis of co-infection of the Sea Lice *Caligus rogercresseyi* and the bacteria *Piscirickettsia salmonis*

INVESTIGADOR RESPONSABLE:

José Gallardo Matus

Los laboratorios donde se efectuará este proyecto cumplen con las normas de bioseguridad que rigen a los laboratorios de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, los cuales han elaborado un procedimiento de bioseguridad basado en el Manual de Normas de Bioseguridad de CONICYT (2008) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

El proyecto de investigación titulado "**Disease Resistance in Salmonids: Genetic analysis of co-infection of the Sea Lice *Caligus rogercresseyi* and the bacteria *Piscirickettsia salmonis***", contempla la utilización de organismos patógenos de peces y, por tanto, clasificados en el Grupo II de la OMS. La experimentación con estos organismos se llevará a cabo en condiciones que impiden su propagación y en un centro autorizado por el Servicio Nacional de Pesca y acuicultura para dichos propósitos. Aquellos centros de experimentación cuentan por tanto con procedimientos para su adecuado uso y eliminación, así como los respectivos instructivos y registros.

Los ensayos *in vivo* serán realizados en peces de 150 gramos de las especies Trucha arcoíris y Salmón del atlántico. Los patógenos con que serán utilizados en este proyecto son *Caligus rogercresseyi* y la bacteria *Piscirickettsia salmonis*. *Caligus rogercresseyi* es un ectoparásito marino clasificado en el nivel 2 de bioseguridad por el Comité Técnico del Reglamento Sanitario de Salud Animal de Especies Hidrobiológicas (RESA). La bacteria intracelular de peces *Piscirickettsia salmonis* está clasificada en el nivel 2 de bioseguridad por ATCC.

Los ensayos genéticos serán realizados en los laboratorios de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso y de la Universidad de Valparaíso.

Químicos con potencial riesgo biológico

Para la visualización de ácidos nucleicos en electroforesis, se utilizará Bromuro de Etidio, compuesto mutagénico, que será eliminado de acuerdo a las normas generales de prevención impuestas por la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Medidas de contención de los laboratorios

En el presente proyecto, las medidas de contención serán de nivel 1 de bioseguridad para los experimentos de biología molecular. Los laboratorios cuentan con gabinetes de bioseguridad nivel 1 y 2.

Barreras Primarias de Contención

- Utilizar gabinetes de bioseguridad preferentemente de Clase II cuando se realicen experimentos que puedan generar aerosoles contaminantes (centrifugación, agitación o mezclas, sonicación, abertura de recipientes, uso de elevadas concentraciones o elevados volúmenes,).
- Utilizar mascarillas, guantes y lentes durante la manipulación de microorganismos fuera del gabinete de bioseguridad.

- La utilización de guantes debe ser permanente y no deben ser utilizados para tocar superficies limpias.
- Laboratorio deberá poseer soluciones de hipoclorito de sodio 1% para el lavado de zonas contaminadas y Etanol al 70% para desinfección.
- Laboratorio deberá contar con soluciones tópicas de povidona yodada o alcohol yodado para rápida desinfección de la piel.

Barreras Secundarias de Contención

- Diseño del laboratorio para una fácil limpieza de equipos y mesones.
- Utilizar puertas de cierre automático.
- Cubiertas de los mesones de trabajo deben ser impermeables al agua, resistentes al calor moderado, resistente a solventes orgánicos, ácidos, álcalis, y reactivos químicos.
- Otros muebles y equipamientos deben ser de superficies de fácil limpieza y descontaminación.
- Instalación de las cámaras de flujo laminar alejadas de puertas y de fluctuaciones de aire.
- Proveer de una iluminación adecuada.
- Considerar la implementación de sistemas de ventilación que provean un flujo de aire hacia el interior sin recirculación de aire hacia el exterior.
- Sellar ventanas.

Barreras microbiológicas

- Utilizar gabinetes de bioseguridad de Clase II cuando se realicen experimentos con organismos clasificados en nivel 2.
- Los desechos deben ser autoclavados.
- El agua de descarga debe ser tratada y esterilizada
- La utilización de guantes debe ser permanente y no deben ser utilizados para tocar superficies limpias.
- Laboratorio deberá poseer soluciones de hipoclorito de sodio 1% para el lavado de zonas contaminadas y Etanol al 70% para desinfección.

Medidas de Seguridad en el trabajo con compuestos potencialmente cancerígenos, mutagénicos, teratogénicos o tóxicos.

- Rotulación detallada y almacenaje en recipientes herméticamente cerrados.
- Manejar un archivador con las hojas técnicas de los productos, los que deben ser previamente leídas por las personas que los manipularán.
- Utilizar delantal, guantes y mascarilla durante su manipulación.

- 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.

- Experimentación en estanques aislados con recirculación
- Descontaminación de recipientes y desperdicios mediante autoclave.
- Limpieza de las salas y los estanques mediante soluciones yodadas
- El agua de descarga es tratada con filtración mecánica y cloración

Delimitación de espacios físicos para el desarrollo de experimentos.

Laboratorios de genética de la PUCV y de la UV: Laboratorio implementado 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: Las opciones disponibles son el centro experimental Lenca de la empresa Aquainnovo o el Centro Experimental Quillaípe de la Fundación Chile, ambos localizados en la ciudad de Puerto Montt.