



## **Pasantía Tecnológica Informe Técnico**

<b>Código del proyecto</b>	<b>:</b>	<b>208-6942</b>
<b>Título del proyecto</b>	<b>:</b>	Pasantía en Noruega sobre Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAV), Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV) y otros virus de interés para la acuicultura.
<b>Empresa Beneficiaria</b>	<b>:</b>	<b>ADL Diagnostic Chile Ltda.</b>
<b>Fecha</b>	<b>:</b>	<b>26 de mayo de 2008</b>

**Entidad Supervisora: Universidad Austral de Chile  
Centro Trapananda  
Coyhaique, Junio 2008**



## Indice

1. Fecha en que se realizó la Pasantía. ....	3
2. Identificación de la empresa beneficiaria. ....	3
3. Descripción general de la pasantía ....	3
4. Grado de cumplimiento del programa de actividades ....	4
5. Conclusión Final del Pasante ....	7
6. Logros destacables del proyecto de Pasantía Tecnológica. ....	7
7. Indicadores de Resultados.....	8



## 1. Fecha en que se realizó la Pasantía.

Salida: 24 marzo 2008

Llegada: 1 mayo 2008, considerando gastos sólo hasta el día 25 de Abril 2008, de acuerdo a lo estipulado en los Términos de Referencia

## 2. Identificación de la empresa beneficiaria.

Empresa	RUT empresa	Nombre participante
ADL Diagnostic Chile Ltda.	77.354.970-2	Eugenio Abel Tapia Alvarado

## 3. Descripción general de la pasantía

El objetivo de esta pasantía fue acrecentar conocimiento y experiencia en las metodologías de aislamiento, detección del virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV), virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) y otros virus de interés en acuicultura, de modo de dar mayor confiabilidad y soporte técnico a ADL Diagnostic Chile Ltda., laboratorio de diagnóstico de reconocida presencia en la industria acuícola chilena

Complementariamente la empresa buscaba en forma específica:

1. Conocer las metodologías generales de trabajo en un laboratorio de referencia OIE.
2. Actualización y entrenamiento en la aplicación de procedimientos de aislamiento y purificación de ISAV, IPNV y otros virus de interés desde tejidos infectados, así como en las metodologías de cuantificación de partículas infectivas.
3. Conocer nuevas metodologías y protocolos de detección viral a través de técnicas diagnósticas (biología molecular, inmunodiagnóstico, etc.).

Esto se realizó mediante un programa de pasantía en Noruega, específicamente en el Instituto Veterinario Nacional de Noruega (NVI) y la Escuela Noruega de Ciencias Veterinarias (NSVS).

El Instituto Veterinario Nacional de Noruega (NVI) y la Escuela Noruega de Ciencias Veterinarias (NSVS), ubicadas en Oslo, son dos instituciones que poseen una larga tradición en la investigación, diagnóstico y tratamiento de enfermedades de peces, moluscos y crustáceos. En la actualidad, entre ambas instituciones, trabajan más de 80 científicos que han conformado un consolidado grupo de trabajo en todos los aspectos relacionados con la patología acuícola. Particularmente, el laboratorio de virología del NVI, está reconocido como laboratorio de referencia internacional por la OIE para el virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV).

## 4. Grado de cumplimiento del programa de actividades

### Primera Semana: (24-28 Marzo 2008)

Actualización general en los procedimientos virológicos utilizados en el laboratorio de la NSVS.

1. Extracción de DNA y RNA desde tejidos de pescado
2. Utilización de pruebas PCR y RT-PCR
3. Clonación
4. Manipulación de secuencias y caracterización molecular de agentes virales.



Escuela Noruega de Ciencias Veterinarias (NSVS)



Vista General del Laboratorio de Virología de la NSVS

Las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y reacción en cadena de la polimerasa reversa (RT-PCR), son dos pruebas moleculares muy utilizadas en la actualidad para procedimientos diagnósticos, ya que detectan secuencias específicas de ácidos nucleicos componentes del genoma de los distintos agentes patógenos. Sin embargo para obtener éxito en su aplicación, los protocolos para éstas pruebas deben ser estandarizados de modo de minimizar la posibilidad de error. Tales protocolos han sido desarrollados y trabajados largamente por los investigadores de la NSVS, por lo que la experiencia ganada por la empresa en el trabajo directo con ellos, permitirá ser más asertivos en el desarrollo de sus propios métodos de trabajo.

De las actividades programadas para la primera semana, no se pudo completar los procedimientos de clonación, manipulación de secuencias y caracterización molecular de los agentes virales, debido a problemas de contaminación ocurridos en los cultivos celulares en los que se intentó replicar las secuencias genéticas de los virus en estudio.

### **Segunda Semana: (31 Marzo-4 Abril 2008)**

Actualización en procedimientos de identificación viral en el laboratorio de virología de la NSVS

1. Fundamentos de la PCR en tiempo real
2. Cuantificación de agentes virales mediante PCR



Equipos para PCR tiempo real y termociclador utilizados en el laboratorio de virología de la NSVS

Cumplimiento 100%

La PCR en tiempo real, se basa en el mismo principio que la PCR convencional, en que un partidor o "primer", es capaz de detectar una secuencia específica de un gen, de modo de amplificarla y visualizarla posteriormente. Sin embargo tiene la ventaja de que aparte de verificar positividad o negatividad de una muestra (prueba cualitativa), posibilita cuantificar, vale decir estimar la cantidad de ácido nucleico, o cantidad de agentes patógenos presentes en la muestra, mejorando la utilidad del diagnóstico final.

Las actividades implicaron la utilización de ISAV, IPNV, alphavirus, nodavirus, rhabdovirus. Se compararon procedimientos, se verificaron protocolos y resultados para cada uno de los virus estudiados.

### **Tercera y cuarta semana: (7-18 Abril 2008)**

Técnicas de diagnóstico aplicadas en casos reales analizados en el laboratorio virológico del NVI, para virus ISA e IPN, así como para otros virus de importancia en acuicultura

1. Diagnóstico rutinario
2. Extracción automática de RNA
3. Cultivo celular
4. PCR tiempo real



Instituto Veterinario Noruego (NVI)



Equipo utilizado y muestras analizadas durante la permanencia en el NVI

Cumplimiento 100%

Cabe señalar que fue posible profundizar el trabajo con agentes virales no presentes en Chile, alphavirus y rhabdovirus, que están siendo un problema recurrente para la salmonicultura europea en general y noruega en particular.

Se trabajó además, con nuevas líneas celulares, se compararon las características de los efectos citopáticos (CPE) para cada tipo celular. Asimismo, se registraron diferencias con las técnicas utilizadas en Chile, de modo de poder adaptar los procedimientos al medio de trabajo local. Además el pasante participó aportando su experiencia, ganada en su trabajo habitual.

### **Quinta semana: (21-25 Abril 2008)**

Finalización de actividades pendientes, discusión general, integración de procedimientos, aclaración de dudas.

Cumplimiento 100%.

## **5. Conclusión Final del Pasante**

El pasante ha manifestado una gran satisfacción con el trabajo desempeñado en un laboratorio de primer nivel con reconocimiento internacional, lo que le ha permitido ampliar su experiencia e inquietud profesional. El contacto directo con los investigadores le ha permitido establecer una comunicación más fluida, que facilitará el intercambio de información, ideas y opiniones.

Con respecto al trabajo, siente que hacer pequeñas modificaciones a sus procedimientos técnicos, gracias a los aprendidos durante su pasantía, mejorará en gran medida la eficacia y la eficiencia en el funcionamiento de la unidad de cultivo celular y virología donde se desempeña.

## **6. Logros destacables del proyecto de Pasantía Tecnológica.**

La empresa ha manifestado los siguientes logros destacables durante el desarrollo del proyecto.

<b>Empresa</b>	<b>Logro destacable</b>
ADL Diagnostic	Implementación de procedimientos locales de diagnóstico, en función de lo utilizado en un laboratorio de referencia internacional.
	La positiva evaluación de los procedimientos utilizados, en comparación con el laboratorio de referencia internacional, otorga una mayor confiabilidad en los resultados obtenidos, tanto para el laboratorio, como para nuestros clientes.
	El trabajo desarrollado con agentes virales no presentes en Chile permitirá implementar metodologías de análisis y diagnóstico específicas para pesquisar la potencial posibilidad de introducción de dichos agentes en Chile.
	Consolidación de un acuerdo de colaboración científica con un centro de investigación de primer nivel.



## 7. Indicadores de Resultados

Resultados que la empresa ha materializado o visualiza materializar como resultado de su participación en el Proyecto.

1. **Optimización en la ejecución de las técnicas ya implementadas en el laboratorio e incorporación de cambios que permitirán mejorar la eficiencia en el trabajo.** Gracias a la pasantía, es posible establecer un patrón de comparación, tomando como base un laboratorio de referencia internacional, lo que permite realizar una completa evaluación de: infraestructura, equipos, metodologías, procedimientos y de los resultados obtenidos tras su aplicación.
2. **Incorporación de técnicas diagnósticas, cultivos celulares, IFAT, y PCR que permitirán diagnosticar agentes virales no presentes en el país.** En los últimos tiempos, se han diagnosticado una serie de enfermedades emergentes asociadas a la acuicultura, tanto en Chile como en otros países. Las enfermedades virales en particular, presentan una serie de dificultades para diagnosticarlas y confirmarlas a través de los análisis de laboratorio, ya que los profesionales deben poseer cierto nivel de experiencia para tener un alto nivel de eficacia en el diagnóstico definitivo, situación que se ve complicada ante la imposibilidad de trabajar con dichos agentes exóticos en nuestro país.
3. **Establecimiento de ventajas comparativas y competitivas, en relación a otros laboratorios, en el diagnóstico de enfermedades exóticas de origen viral.** La experiencia ganada permitirá enfrentar con mayor propiedad la sospecha de presencia de dichas enfermedades en nuestro medio y establecer desde ya, una metodología para un eventual diagnóstico. De esta forma, se establecerá una clara ventaja sobre otros laboratorios.
4. **Consolidación de una red de contactos científicos, que permitan a futuro, colaboración en publicaciones, proyectos, seminarios, programas de difusión e intercambio de profesionales.** Actualmente es de vital importancia establecer redes de contacto, particularmente con grupos de científicos de países desarrollados. Esta inserción mejorará considerablemente la confianza y credibilidad de los clientes en los métodos desarrollados por la empresa.