



PLAN OPERATIVO

PROYECTOS 2012

NOMBRE INICIATIVA:	Desarrollo de un sistema basado en inmunoterapia celular para mejorar la respuesta inmune de las vacunas veterinarias: una oportunidad para controlar el riesgo del virus ISA como reservorio en sistemas dulceacuícolas y marinos.
EJECUTOR:	Universidad de Santiago de Chile
CODIGO:	PYT-2012-0022
FECHA:	27-08-2012

FIRMA POR FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

FIRMA POR EJECUTOR (Coordinador Principal)

CONTENIDO

I. PLAN DE TRABAJO TÉCNICO	3
A. Antecedentes Generales	3
B. Plan de Trabajo	5
C. Dedicación.....	14
D. Fichas Curriculares.....	17
E. Indicadores Minagri.....	24

I. PLAN DE TRABAJO TÉCNICO

A. Antecedentes Generales

1. Nombre Ejecutor (Entidad Responsable)

Nombre	Giro / actividad	RUT	Representante(s) Legal(es)
Universidad de Santiago de Chile	Educación		Juan Manuel Zolezzi Cid

2. Identificación de Agentes Asociados

Nombre	Giro / actividad	RUT	Representante(s) Legal(es)
Activaq S.A.	Asesoría, consultoría, capacitación, investigación, desarrollo, producción, representación y comercialización de productos biológicos y fármacos veterinarios y prestación de servicios en el área de salud animal.		Geraldine Mlynarz Zylberberg

3. Coordinadores Principal y Alterno

Nombre	Formación / grado académico	Empleador	Función dentro del proyecto
Marcelo Cortez San Martín	Bioquímico/ Doctor en Bioquímica y Biología Molecular	Universidad de Santiago de Chile	Coordinador Principal
Claudio Acuña Castillo	Bioquímico/ Doctor en Ciencias Biomédicas	Universidad de Santiago de Chile	Coordinador Alterno

4. Duración y ubicación del Proyecto

Duración		Período de ejecución	
Meses	36	Fecha de inicio	01-09-2012
		Fecha de término	30-08-2015
Territorio			
Región (es)		Comuna (as)	
Metropolitana		Estación Central, Providencia	

5. Resumen ejecutivo (máximo 400 palabras)

Chile llegó a disputar con Noruega el primer y segundo lugar de la producción mundial de salmónidos, hasta la crisis del salmón causada por el virus ISA. Esto es una muestra más del riesgo producido por enfermedades infecciosas en sistemas intensivos de cultivo.

Una de las herramientas más potentes para el control de las infecciones es la prevención de la enfermedad mediante la aplicación de vacunas, especialmente para aquellas enfermedades que no tienen tratamiento como ocurre con las virales. El desarrollo de vacunas eficientes para el control de las infecciones virales no es fácil, tanto por la variabilidad de los virus como por la complejidad de su infección.

Con los peces esto es más complicado, ya que su sistema inmune es menos conocido, menos eficiente y tiene una memoria muy limitada en el tiempo. Por este motivo, las vacunas existentes en salmonicultura producen una muy baja protección, centrando su diseño hacia la estimulación del sistema inmune humoral.

Basándonos en estos antecedentes proponemos desarrollar una nueva generación de vacunas veterinarias con el fin de potenciar integralmente la respuesta inmune de los salmones para aumentar su eficacia y protección. En este proyecto se plantea el desarrollo de un sistema basado en inmunoterapia celular tomando como modelo el control de las infecciones por virus ISA en sistemas dulceacuícolas y marinos.

Específicamente se propone: i) Desarrollar un sistema de expresión constitutiva de proteínas virales en líneas celulares (in vitro) derivadas de macrófagos de Salmon del Atlántico, ii) Desarrollar in vitro una vacuna piloto basada en cuerpos celulares que contenga antígenos virales (proteína Hemaglutinina y proteína Fusión) de ISAV en su superficie, iii) Lograr una dosis segura para la vacuna piloto con capacidad inmunogénica y baja ecotoxicidad en ejemplares juveniles de salmón del atlántico, iv) Generar una vacuna eficaz en términos de mortalidad, activación de la respuesta inmune y número de copias virales en ejemplares juveniles de salmón de atlántico desafiados con ISAV y v) Transferir esta tecnología al sector productivo para su registro, y escalamiento productivo y comercial.

La estructura de los ejecutores de esta propuesta es clave para concretar la generación de valor del conocimiento científico: con un grupo de investigadores consolidados y cohesionados, comprometidos con el desarrollo tecnológico y con la red de comercialización del producto en la industria se propone dar una solución más eficiente a esta problemática.

Este desarrollo tecnológico será comercializado a través de la empresa socia ActivaQ que cuenta con más de 10 años de experiencia en el mercado de salud en salmones y con una cartera consolidada de clientes.

6. Propiedad Intelectual

¿Existe interés por resguardar la propiedad intelectual?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input checked="" type="checkbox"/>
Nombre institución que la protegerá	% de participación			

B. Plan de Trabajo

7. Objetivos

Objetivo general	
Desarrollar un sistema basado en inmunoterapia celular para mejorar la respuesta inmune de las vacunas veterinarias que permitan controlar las infecciones por virus ISA en sistemas dulceacuícolas y marinos.	
Nº	Objetivos específicos (OE)
1	Desarrollar un sistema de expresión constitutiva de proteínas virales en líneas celulares (<i>in vitro</i>) derivadas de macrófagos de Salmón del Atlántico.
2	Desarrollar <i>in vitro</i> una vacuna piloto basada en cuerpos celulares que contenga antígenos virales (proteína Hemaglutinina y proteína Fusión) de ISAV en su superficie.
3	Lograr una dosis segura para la vacuna piloto con capacidad inmunogénica y baja ecotoxicidad en ejemplares juveniles de salmón del atlántico.
4	Generar una vacuna eficaz en términos de mortalidad, activación de la respuesta inmune y número de copias virales en ejemplares juveniles de salmón de atlántico desafiados con ISAV.
5	Transferir esta tecnología al sector productivo para su registro, y escalamiento productivo y comercial.

8. Resultados Esperados (RE)

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicadores de Resultados				Fecha de Cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base del indicador (situación actual)	Meta del indicador (al final del proyecto)	
1	1.1	Plásmido que conduzca la expresión constitutiva de proteínas virales en líneas celulares derivadas de macrófagos de Salmón del Atlántico a partir de un plásmido.	Vector plasmidial de expresión dual y constitutiva para células de salmones	Número de vectores plasmidiales para células de salmones	0	1	28-02-2013
1	1.2	Método para expresión eficiente de proteínas recombinantes en células de salmones.	Sistema de expresión eficiente de proteínas recombinantes en células de salmones	Cantidad en mg de proteínas recombinantes por litro de cultivo	0	mg/L de proteína recombinante	30-05-2013
2	2.1	Vacuna piloto basada en cuerpos celulares que contenga antígenos virales (proteína Hemaglutinina y proteína Fusión) de ISAV en su superficie.	Formulación vacunal en fase prototipo	Número de formulaciones experimentales en fase prototipo	0	formulaciones experimentales	30-08-2013
2	2.2	Vacuna piloto titulada de antígenos virales	Concentración de antígeno viral	µg de antígenos virales/dosis de vacuna	µg de antígenos virales/dosis	≥ µg de antígenos virales/dosis	30-08-2013
3	3.1	Dosis vacunal más segura en ejemplares juveniles de salmón del atlántico mantenidos en sistemas dulceacuícola.	Formulación vacunal segura en peces	Efecto adverso de las formulaciones experimentales en la escala de Speilberg (Formula de cálculo Speilberg: anexo)	en escala de Speilberg	Efecto adverso bajo < en escala de Speilberg	30-08-2013
3	3.2	Dosis vacunal que permita generar una respuesta inmune celular en ejemplares juveniles de salmón del atlántico mantenidos en sistemas dulceacuícola.	Formulación vacunal capaz de generar respuesta inmune en peces	Capacidad de la formulación inmunogénica para aumentar la expresión relativa y normalizada (NRE) de CD4 + (marcador de linfocitos) con respecto al control. (Calculo en Anexo)	veces la NRE (resultados propios)	La vacuna experimental aumenta al menos veces la expresión de CD4+ (marcador de linfocitos) con respecto al control.	30-11-2013

N° OE	N° RE	Resultado Esperado (RE)	Indicadores de Resultados				Fecha de Cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base del indicador (situación actual)	Meta del indicador (al final del proyecto)	
3	3.3	Dosis vacunal inocua para el medio ambiente.	Formulación vacunal de baja ecotoxicidad e inocua para el medio ambiente	Coeficiente de Riesgo (RQ) en condiciones nacionales, indicador de la ecotoxicidad. (Fórmula de cálculo de RQ: Anexo)	RQ ≤	RQ ≤	30-08-2013
4	4.1	Dosis vacunal eficaz contra el virus ISA en ejemplares juveniles de salmón del atlántico en términos de Porcentaje Relativo de Supervivencia (RPS).	Formulación vacunal eficaz contra virus ISA	Porcentaje Relativo de Supervivencia (RPS) de los ejemplares juveniles de salmón del atlántico (Fórmula de cálculo de RPS: anexo)	RPS≈%	RPS≥%	30-05-2014
5	5.1	Transferencia tecnológica de la vacuna al sector productivo.	Realización de transferencia tecnológica al sector productivo	Porcentaje de información y material transferido al sector productivo	0	100%	30-08-2015
5	5.2	Producto competitivo	Costo de producción de la vacuna	Costo de producción por dosis	\$ /dosis	\$ /dosis	30-08-2015
5	5.3	Venta de vacuna en el mercado nacional.	Venta de vacunas contra ISAV	Número de dosis vendidas	0	dosis	30-08-2015

9. Actividades

Nº OE	Nº RE	Actividades	Fecha de inicio	Fecha de término
1	1.1	1.1.1 Diseño y síntesis del vector plasmidial. 1.1.2 Clonamiento de genes virales en el vector plasmidial	01-09-2012	28-02-2013
1	1.2	1.2.1 Expresión constitutiva de proteínas recombinantes en células de salmón 1.2.2 Cuantificación de proteínas recombinantes en células de salmón	01-12-2012	30-05-2013
2	2.1	2.1.1 Generación de cuerpos celulares cargados con proteínas virales. 2.1.2 Formulación de tres vacunas prototipo	01-03-2013	30-08-2013
2	2.2	2.2.1 Formulación de vacuna con cantidad de antígeno conocida	01-06-2013	30-08-2013
3	3.1	3.1.1 Ensayos de evaluación de seguridad y efectos adversos en peces vacunados con dosis máxima	01-06-2013	30-08-2013
3	3.2	3.2.1 Ensayo de evaluación de la potencia de la formulación vacunal en peces vacunados mediante inmunogenómica.	01-06-2013	30-11-2013
3	3.3	3.3.1 Análisis de ecotoxicidad mediante metodología VICH vigente	01-06-2013	30-08-2013
4	4.1	4.1.1 Ensayos de evaluación de eficacia en peces vacunados y desafiados con virus ISA para obtener dosis mínima eficaz mediante determinación de Porcentaje Relativo de Supervivencia (RPS).	01-09-2013	30-05-2014
		4.1.2 Análisis mediante inmunohistoquímica e histopatología de muestras de peces vacunados y desafiados con virus ISA	01-06-2014	30-11-2014
		4.1.3 Análisis mediante RT-PCR cuantitativo para determinar carga viral en peces vacunados y desafiados, incluyendo controles y placebo.	01-06-2014	30-05-2015
5	5.1	5.1.1 Compilación de todos los resultados obtenidos durante el proyecto y escritura del manual de procedimientos para la manufactura de las formulaciones vacunales. 5.1.2 Ejecución de la transferencia tecnológica de los resultados de investigación	01-03-2015	30-07-2015
5	5.2	5.2.1 Determinación de los costos de producción por dosis	01-06-2015	30-06-2015
5	5.3	5.3.1 Venta de las primeras dosis producidas a mediana escala	01-08-2015	30-08-2015

10. Hitos Críticos

Nº RE	Hitos críticos	Fecha Cumplimiento
1.1 y 1.2	Obtención de un plasmidio que exprese constitutivamente cantidades adecuadas de proteínas virales en líneas celulares de Salmón del Atlántico.	30-05-2013
3.1	Obtención de dosis máxima segura de una vacuna	30-08-2013
3.2	Obtención de dosis inmunogena (activadora de la respuesta inmune celular)	30-11-2013
4.1	Obtención de dosis mínima eficaz contra virus ISA que otorgue un RPS del 50%.	30-05-2015
5.1	Concretar la transferencia tecnológica de los resultados de investigación a ActivaQ SA	30-07-2015

11. Método

Objetivo N° 1	Desarrollar un sistema de expresión constitutiva de proteínas virales en líneas celulares (<i>in vitro</i>) derivadas de macrófagos de Salmon del Atlántico.
<p>Se diseñará por computadora un sistema plasmidial de expresión dual que permita co-expresar constitutivamente proteínas recombinantes en líneas celulares de salmón del atlántico ASK. Con genes de resistencia a ampicilina y neomicina para su selección en células procariontes y eucariontes respectivamente, elementos reguladores (i.e. promotores, señales de poliadenilación) y un sitio de múltiple clonaje.</p> <p>Este diseño será sintetizado en Genscript Corp. (EEUU) para posteriormente ser utilizado para insertar (clonar) los genes (con los que ya contamos) que codifican para la proteína Hemaglutinina (HE) y proteína Fusión (F) de ISAV y seleccionarlo en agar con ampicilina.</p> <p>El sistema plasmidial obtenido será introducido en líneas celulares de salmón del Atlántico ASK. Posteriormente se seleccionarán células resistentes a neomicina, la co-expresión de las proteínas virales será seguida mediante inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales contra HE y F durante al menos 2 meses.</p> <p>Los diversos clones celulares obtenidos serán analizados para determinar las cantidades de proteínas recombinantes expresadas mediante citometría de flujo, western blot y geles de poliacrilamida acoplado a análisis de densitometría. Los resultados serán llevados a rendimiento por litro de cultivo.</p>	

Objetivo N° 2	Desarrollar <i>in vitro</i> una vacuna piloto basada en cuerpos celulares que contenga antígenos virales (proteína Hemaglutinina y proteína Fusión) de ISAV en su superficie.
<p>Para la obtención de cuerpos celulares las células de salmón seleccionadas y que expresan las mayores concentraciones de proteína recombinante (mínimo 10mg/L de proteína recombinante) serán sometidas a tratamientos específicos hasta observar incapacidad de adherencia o pérdida de forma u oscurecimiento o condensación de su cromatina, etc.</p> <p>Posteriormente las células serán cosechadas de sus contenedores de cultivo, caracterizadas por Inmunofluorescencia, cuantificadas y tituladas para posteriormente ser inactivadas química o físicamente para eliminar la funcionalidad de los genes de resistencia. Las vacunas piloto con cantidad de antígeno recombinante por dosis previamente calculado (mínimo 1ug/dosis de proteínas recombinantes) serán co-formuladas con adyuvantes aceptados para su uso en salmones y almacenadas a 4°C hasta su uso.</p>	

Objetivo N° 3	Lograr una dosis segura para la vacuna piloto con capacidad inmunogénica y baja ecotoxicidad en ejemplares juveniles de salmón del atlántico.
<p>Cada formulación vacunal se evaluará de tal manera de obtener la dosis máxima segura en ejemplares juveniles de Salmón del Atlántico mantenidos en sistemas dulceacuícolas y marinos, llevando el registro de mortalidades diarias para determinar seguridad y reacciones adversas para ver inocuidad.</p> <p>Cada 10 días se analizarán 5 peces de cada grupo realizando necropsias que indiquen indicios de adherencias intra-abdominales (escala de Spielberg) y/o pigmentaciones, el ensayo durará 70 días. Por otro lado la capacidad inmunogénica de cada formulación será analizada mediante cuantificación de la respuesta inmune innata mediante qRT-PCR de marcadores inmunológicos (inmunogenómica) para salmónidos implementados en el laboratorio de Inmunología de la USACH dirigido por la Dra. Mónica Imarai, principalmente se enfocará el estudio en determinar aumento de expresión CD4+ para analizar proliferación de linfocitos, es decir respuesta inmune celular.</p> <p>El análisis de ecotoxicidad será subcontratado y deberá regirse por metodologías internacionalmente establecidas y aceptadas por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) la cual corresponde a la metodología VICH.</p>	

Objetivo N° 4	Generar una vacuna eficaz en términos de mortalidad, activación de la respuesta inmune y número de copias virales en ejemplares juveniles de salmón de atlántico desafiados con ISAV.
<p>Cada formulación vacunal se evaluará de tal manera de obtener la dosis mínima eficaz y su respectivo Porcentaje Relativo de Supervivencia (RPS). Para evaluar la eficacia de las preparaciones cada grupo (mínimo 100 ejemplares) de peces vacunados, placebo y controles, serán desafiados a distintos intervalos de tiempo mediante la cohabitación de peces positivos para ISAV y se registrará mortalidad, con estos datos se confeccionará una curva de mortalidad y mediante estimador no paramétrico (Kaplan-Meier) la supervivencia y la posterior RPS.</p> <p>Cada 15 días se analizarán 5 peces de cada grupo realizando necropsias que indiquen indicios de enfermedad, las agallas, corazón, riñón-anterior y bazo de cada individuo serán analizados mediante inmunohistoquímica para detectar la presencia del virus, adicionalmente serán utilizadas para extraer ARN genómico viral que servirá para cuantificar la carga viral de ISAV, concomitantemente se realizará RT-PCR para determina genotipo viral (HPR). Este análisis también se realizará en peces muertos durante el ensayo.</p>	

Objetivo N° 5	Transferir esta tecnología al sector productivo para su registro, y escalamiento productivo y comercial.
<p>La transferencia de tecnológica hacia ActivaQ S.A. se realizará mediante la sistematización de los conocimientos, de los procedimientos y de las normas sobre las cuales se sustenta el proceso mismo. Se elaborarán planes de transferencia y comercialización; se estructurarán estudios, análisis y paquetes tecnológicos; adicionalmente se diseñarán nuevas formas organizacionales acorde a las nuevas necesidades para que exista claridad sobre los recursos necesarios y disponibles, y sobre los servicios sustanciales y de apoyo que hay que brindar a la contraparte.</p> <p>Para la comercialización de la vacuna, se negociará un acuerdo de licenciamiento con la empresa ActivaQ que será la receptora del paquete tecnológico y realizará el registro ante el SAG de la vacuna. Este acuerdo considera de manera preliminar un royalty (% sobre las ventas) de un 5% y un pago inicial por determinarse en la negociación que cubra los costos asociados a la transferencia (horas de investigadores involucrados en la transferencia). ActivaQ realizará la maquila de la vacuna con un tercero quien fabricará las vacunas y las empaquetará con la marca Celvaq (maquila de vacunas) con las cuales ya se tienen acuerdos (Ej.: Tecnovax). ActivaQ será también la encargada de la comercializar el producto a las empresas productoras de salmones, localizadas principalmente entre la X y XII Región, Chile. No se descarta que los productos puedan ser exportados y administrados en salmones de otros países productores como son Noruega, Escocia, Dinamarca, EEUU o Canadá.</p> <p>La venta de las primeras dosis se llevará a cabo mediante la red de comercialización que previamente maneja la entidad asociada gracias a los años de presencia en el sector acuícola.</p>	

12. Carta Gantt (Trimestral)

Nº OE	Nº RE	Actividad	Año 2012		Año 2013				Año 2014				Año 2015			
			3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	
1	1.1	1.1.1. Diseño y síntesis del vector plasmidial.	X													
1	1.1	1.1.2. Clonamiento de genes virales en el vector plasmidial		X												
1	1.2	1.2.1. Expresión constitutiva de proteínas recombinantes en células de salmón		X	X											
1	1.2	1.2.2. Cuantificación de proteínas recombinantes en células de salmón			X											
2	2.1	2.1.1. Generación de cuerpos celulares cargados con proteínas virales			X	X	X									
2	2.1	2.1.2 Formulación de tres vacunas prototipo				X	X									
2	2.2	2.2.1 Formulación de vacuna con cantidad de antígeno conocida				X	X									
3	3.1	3.1.1. Ensayos de evaluación de seguridad y efectos adversos en peces vacunados con dosis máxima				X	X									
3	3.2	3.2.1. Ensayo de evaluación de la potencia de la formulación vacunal en peces vacunados mediante inmunogenómica.				X	X	X								
3	3.3	3.3.1. Análisis de ecotoxicidad mediante metodología VICH vigente				X	X									
4	4.1	4.1.1. Ensayos de evaluación de eficacia en peces vacunados y desafiados con virus ISA para obtener dosis mínima eficaz mediante determinación de RPS.					X	X	X							
4	4.1	4.1.2. Análisis mediante inmunohistoquímica e histopatología de muestras de peces vacunados y desafiados con virus ISA								X	X					
4	4.1	4.1.3. Análisis mediante RT-PCR cuantitativo para determinar carga viral en peces vacunados y desafiados, incluyendo controles y placebo.								X	X	X	X			
5	5.1	5.1.1. Compilación de todos los resultados obtenidos durante el proyecto y escritura del manual de procedimientos para la manufactura de las formulaciones vacunales.												X	X	
5	5.1	5.1.2. Ejecución de la transferencia tecnológica de los resultados de investigación													X	
5	5.2	5.2.1. Determinación de los costos de producción por dosis													X	
5	5.3	5.3.1. Venta de las primeras dosis producidas a mediana escala													X	X

13. Función y responsabilidad del ejecutor(es) y asociado(s) en el desarrollo del proyecto

Ejecutor(es) / Asociado(s)	Función y responsabilidad
Universidad de Santiago de Chile	Responsable de la ejecución del proyecto y de los resultados esperados. Coordina las actividades del proyecto, subcontratar a terceros, interactuar con la empresa asociada y asesores. Producir los nuevos procedimientos y productos.
ActivaQ S.A.	Coordinar y realizar las actividades de transferencia tecnológica, así como gestionar la producción y futuro registro del producto. Proveen la contraparte técnica para gestionar el escalamiento productivo y realizar la comercialización de los desarrollos del proyecto con el fin de que tengan viabilidad comercial y técnica una vez finalizado el proyecto.

14. Actividades de Difusión Programadas

Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes	Perfil de los participantes	Medio de Invitación
Marzo 2013	Santiago	Lanzamiento oficial de proyectos FIA USACH	100	Investigadores, Académicos, Estudiantes y empresarios	WEB y correos electrónicos.
Enero 2015	Puerto Montt	VI Congreso Nacional de Acuicultura	500	Investigadores, Académicos y estudiantes	WEB
Agosto 2015	Llanquihue	Evento de lanzamiento del producto	100	Representantes de Productores de salmón y farmacéuticas veterinarias	Publicación en Diario, Pagina Web CBA, Revista Aqua, Correo electrónico, etc.

C. Dedicación

15. Tiempos de dedicación del equipo técnico*.

Nombre	Rut	Cargo dentro del proyecto	Nº de resultado sobre el que tiene responsabilidad	Nº de Meses de dedicación	Período dd/mm/aa - dd/mm/aa	Horas/Mes
Marcelo Andrés Cortez San Martín		Coordinador del proyecto, investigador y responsable de I+D y ensayos con animales.	1.1→5.3	36	01-09-2012 30-08-2015	25
Claudio Antonio Acuña Castillo		Coordinador alternativo del proyecto e investigador I+D de procesos y formulación	1.1→5.3	36	01-09-2012 30-08-2015	20
Margarita Paz Montoya Kunsting		Investigadora I+D Biología Molecular	1.1 y 1.2	36	01-09-2012 30-08-2015	20
Geraldine Mlynarz Zylberberg		Responsable de la Transferencia Tecnológica, unidad de protección y procesos industrial	5.1, 5.2 y 5.3	36	01-09-2012 30-08-2015	8
Carmen Mónica Imarai Bahamonde		Investigadora experta en inmunología de peces	3.2	36	01-09-2012 30-08-2015	5
Ana María Sandino García		Apoyo en transferencia tecnológica	5.1, 5.2 y 5.3	36	01-09-2012 30-08-2015	3
Nicolás Pablo Sandoval Astudillo		Profesional Bioquímico de I+D+i	1.1→5.1	36	01-09-2012 30-08-2015	180
NN		Veterinario	3.1 y 4.1	18	01-06-2013 30-11-2014	60

*Equipo Técnico: Todo el recurso humano definido como parte del equipo de trabajo del proyecto. **No incluye RRHH de servicios de terceros.**

16. Flujo de horas de dedicación al proyecto por trimestre del equipo técnico

Recurso Humano	Año 2012				Año 2013				Año 2014				Año 2015			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Marcelo Andrés Cortez San Martín	0	0	25	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	50	0
Claudio Antonio Acuña Castillo	0	0	20	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	40	0
Margarita Paz Montoya Kunsting	0	0	20	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	40	0
Geraldine Mlynarz Zylberberg	0	0	8	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	16	0
Carmen Mónica Imarai Bahamonde	0	0	5	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	10	0
Ana María Sandino García	0	0	3	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	6	0
Nicolás Pablo Sandoval Astudillo	0	0	180	540	540	540	540	540	540	540	540	540	540	540	360	0
NN	0		0	0	0	60	180	180	180	180	180	120	0	0	0	0

D. Fichas curriculares

17. Ficha del Ejecutor (entidad responsable)

Nombre o razón social	Universidad de Santiago de Chile			
Giro / Actividad	Educación			
RUT				
Tipo de entidad (1)	Universidades Nacionales			
Ventas totales (nacionales y exportaciones) de la empresa durante el año pasado, indique monto en UF en el rango que corresponda	Micro empresa menos de 2400 UF / año	Pequeña 2.401 a 25.000 UF / año	Mediana 25.001 a 100.000 UF / año	Grande más de 100.001 UF / año
Exportaciones, año 2010 (US\$)				
Número total de trabajadores				
Usuario INDAP (sí / no)				
Dirección (calle y número)				
Ciudad o Comuna				
Región	Metropolitana			
País	Chile			
Teléfono fijo				
Fax				
Teléfono celular				
Email				
Dirección Web	www.usach.cl			

18. Ficha representante(s) Legal(es) del Ejecutor (entidad responsable)

Nombre	Juan Manuel
Apellido paterno	Zolezzi
Apellido materno	Cid
RUT	
Cargo en la organización	Rector
Género	Masculino
Etnia (2)(clasificación al final del documento)	
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional
Firma del representante legal	

19. Ficha del Asociado N°1. (Repetir esta información por cada asociado)

Nombre o razón social	ActivaQ S.A.			
Giro / Actividad	Asesoría, consultoría, capacitación, investigación, desarrollo, producción, representación y comercialización de productos biológicos y fármacos veterinarios y prestación de servicios en el área de salud animal.			
RUT				
Tipo de entidad (1)	Empresas productivas y/o de procesamiento			
Ventas totales (nacionales y exportaciones) de la empresa durante el año pasado, indique monto en UF en el rango que corresponda	Micro empresa (menos de 2400 UF/ año)	Pequeña (2.401 a 25.000 UF / año)	Mediana (25.001 a 100.000 UF / año)	Grande (más de 100.001 UF / año)
Exportaciones, año 2010 (US\$)				
Número total de trabajadores				
Usuario INDAP (sí / no)				
Dirección (calle y número)				
Ciudad o Comuna				
Región	Metropolitana			
País	Chile			
Teléfono fijo				
Fax				
Teléfono celular				
Email				
Dirección Web	www.activaq.cl			

20. Ficha representante(s) Legal(es) de Asociado(s) N°1. Repetir esta información por cada asociado

Nombre	Geraldine
Apellido paterno	Mlynarz
Apellido materno	Zylberberg
RUT	
Cargo en la organización	Gerente General
Género	Femenino
Etnia (2) (clasificación al final del documento)	
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional
Firma del representante legal	

21. Ficha de Coordinador Principal

Nombres	Marcelo Andrés	
Apellido paterno	Cortez	
Apellido materno	San Martín	
RUT		
Profesión	Bioquímico	
Empresa/organización donde trabaja	Universidad de Santiago de Chile	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Investigador Asociado	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto (\$)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Masculino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

22. Ficha de Coordinador Alterno

Nombres	Claudio Antonio	
Apellido paterno	Acuña	
Apellido materno	Castillo	
RUT		
Profesión	Bioquímico	
Empresa/organización donde trabaja	Universidad de Santiago de Chile	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Investigador Asociado	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto (\$)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Masculino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

23. Ficha Profesional 1 Equipo Técnico.

Nombres	Margarita Paz	
Apellido paterno	Montoya	
Apellido materno	Kunsting	
RUT		
Profesión	Bioquímico	
Empresa/organización donde trabaja	Universidad de Santiago de Chile	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Investigador Asociado	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto (\$)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Femenino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

24. Ficha Profesional 2 Equipo Técnico.

Nombres	Geraldine	
Apellido paterno	Mlynarz	
Apellido materno	Zylberberg	
RUT		
Profesión	Ingeniero Agrónomo	
Empresa/organización donde trabaja	ActivaQ S.A.	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Gerente Acuícola	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto (\$)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Femenino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

25. Ficha Profesional 3 Equipo Técnico.

Nombres	Carmen Mónica	
Apellido paterno	Imarai	
Apellido materno	Bahamonde	
RUT		
Profesión	Bioquímico	
Empresa/organización donde trabaja	Universidad de Santiago de Chile	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Profesor Titular	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto (\$)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Femenino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

26. Ficha Profesional 4 Equipo Técnico.

Nombres	Ana María	
Apellido paterno	Sandino	
Apellido materno	García	
RUT		
Profesión	Bioquímico	
Empresa/organización donde trabaja	Universidad de Santiago de Chile	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Profesor Titular	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto (\$)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Femenino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

27. Ficha Profesional 5 Equipo Técnico.

Nombres	Nicolás Pablo	
Apellido paterno	Sandoval	
Apellido materno	Astudillo	
RUT		
Profesión	Bioquímico	
Empresa/organización donde trabaja	Universidad de Santiago de Chile	
RUT de la empresa/organización		
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Recién titulado	
Si es investigador responda	Horas totales dedicadas al proyecto	Valor total de las horas dedicadas al proyecto (\$)
Dirección laboral (calle y número)		
Ciudad o Comuna		
Región	Metropolitana	
País	Chile	
Teléfono fijo		
Fax		
Teléfono celular		
Email		
Género	Masculino	
Etnia (2) (clasificación al final del documento)		
Tipo (3) (clasificación al final del documento)	Profesional	
Firma		

28. Cuantificación e identificación de Beneficiarios directos de la iniciativa

Género	Masculino		Femenino		Subtotal
	Pueblo Originario	Sin Clasificar	Pueblo Originario	Sin Clasificar	
Agricultor emprendedor micro-pequeño	0	3	0	5	8
Agricultor emprendedor mediano-grande	0	0	0	0	0
Subtotal	3		5		8
Total	3		5		8

E. Indicadores Solicitados por el Ministerio de Agricultura

29. Indicadores Minagri

¿Su proyecto tiene que ver con la venta de algún bien o servicio?				Si	x	No	
Si su respuesta es sí , refiérase a los siguientes indicadores relacionados con el proyecto:							
Selección	Indicador	Descripción del	Fórmula de	Línea base	Indicador al	Indicador a los 3	

de indicador ¹		indicador ²	indicador	del indicador ³	término del proyecto ⁴	años de finalizado el proyecto ⁵
X	Ventas	Ventas de vacunas inyectables	\$/año			
X	Costos	Costo de producción	\$/unidad	\$ /dosis	\$ /dosis	\$ /dosis
	Empleo		Jornadas hombre/año			

¹ Marque con una X, el o los indicadores a medir en el proyecto

² Señale para el indicador seleccionado, lo que específicamente se medirá en el proyecto

³ Completar con el valor que tiene el indicador al inicio del proyecto

⁴ Completar con el valor del indicador, al cual se espera llegar al final del proyecto

⁵ Completar con el valor del indicador, al cual se espera llegar al cabo de 3 años de finalizado el proyecto

(1) Tipo de entidad

Empresas productivas y/o de procesamiento
Personas Naturales
Universidades Nacionales
Universidades Extranjeras
Instituciones o entidades Privadas
Instituciones o entidades Públicas
Instituciones o entidades Extranjeras
Institutos de investigación
Organización o Asociación de Productores
Otras (especificar)

(2) Etnia

Mapuche
Aimara
Rapa Nui o Pascuense
Atacameña
Quechua
Collas del Norte
Kawashkar o Alacalufe
Yagán
Sin clasificar

(3) Tipo

Productor individual pequeño
Productor individual mediano-grande
Técnico
Profesional
Sin clasificar

Anexo

Tabla 1: “Escala de Spielberg” para las lesiones intraperitoneales en peces vacunados. (Midtlyng y col., 1996).

Grado	Cambios visibles en la cavidad abdominal	Consecuencias para el proceso de fileteado.
0	No hay cambios visibles	Ninguna
1	Mínima adhesión de tejidos, localizadas en el sitio de la inyección.	Mínimos.
2	Pequeñas áreas de adherencias de tejido y adherencia abdominal, normalmente confinadas a la parte posterior y final de la cavidad abdominal.	Cambios mínimos.
3	Grandes áreas de adherencias de tejido, normalmente confinadas hacia la parte anterior de la cavidad abdominal.	Pequeños cambios visibles después del proceso de eviscerado.
4	Importantes grados de adherencias que incluyen órganos abdominales, a menudo en áreas extensas.	Posible daño del filete. Baja clase del producto.
5	Amplia difusión de las adherencias en la mayoría de los órganos internos, produciendo áreas duras y compactas. Presencia de granulomas y depósito de pigmentos (melanina).	Cambios resultan en serios daños al filete, con resultado de baja calidad del producto.
6	Daños mayores que en el grado 5, a menudo con considerable cantidad de melanina. Las vísceras no pueden ser removidas sin producir daño a la integridad del filete	Imposible procesar el pez sin dañar el filete. Pez inadecuado para el consumo.

Determinación de Coeficiente de Riesgo (RQ)

•Risk Quotient (RQ)= PEC/PNEC ≥ 1 = **PRODUCTO CON RIESGO AMBIENTAL**

•Predicted Environmental Concentration (PEC)

•Predicted No Effect Concentration (PNEC)= (LC50, EC50, NOEC)/AF

LC 50 = The concentration of a the test substance which results in a 50% mortality of the test species.

EC 50 = The concentration of a test substance which results in 50% of the test animals being adversely affected; both mortality and sub-lethal effects.

NOEC= No-observed effect concentration; the test concentration at which no adverse effect occurs.

•Assessment (safety) factors (AF)= 10 –1000

«Resolución Exenta No 665 del 29 de Enero de 2010, señala:

Resuelvo 1, letra a) Se considerara que los productos farmacéuticos de uso exclusivamente veterinarios son seguros para el medio ambiente cuando el resultado de la evaluación de la ecotoxicidad en condiciones nacionales indique que el Coeficiente de Riesgo (RQ) es . 100.¡”

Letra b) Cuando el resultado de la evaluación de la ecotoxicidad en condiciones nacionales indique que el Coeficiente de Riesgo (RQ) tenga un valor entre 100 y 1000, junto con los antecedentes técnicos para solicitar un registro, el interesado deberá presentar un Programa de Monitoreo Ambiental que permita aplicar medidas de prevención y control frente a situaciones de riesgo ambiental, el cual será analizado en conjunto con los demás antecedentes presentados para la aprobación o rechazo del registro.¡”

Letra c) Cuando el resultado de la evaluación de la ecotoxicidad en condiciones nacionales indique que el Coeficiente de Riesgo (RQ) es >1000, se considerara que los productos farmacéuticos de uso exclusivamente veterinario provocan daño al ambiente, no pudiendo registrarse.”

Calculo de NRE

Los cálculos en cuantificación relativa de expresión genética se basan en la comparación de los valores Ct utilizando la eficiencia de la reacción de la PCR como factor de corrección. Sin embargo, hay un modelo que no requiere la eficiencia de la reacción para acceder a un factor de corrección. Este modelo supone una eficiencia óptima e idéntica (correspondiente al 100%) en la eficiencia de reacción en las PCR en tiempo real tanto del gen en estudio como del gen de referencia (Livak & Schmittgen, 2001). Este es el método 2 delta-delta Ct que sólo es aplicable para una estimación rápida de la proporción relativa de la expresión genética en estudio (Pfaffl, 2001). El método 2 delta-delta Ct expresa la proporción obtenida de la relación entre los valores Ct de la muestra y los valores Ct del control tal y como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\text{ratio} = 2^{-[\Delta\text{CP sample} - \Delta\text{CP control}]}$$

$$\text{ratio} = 2^{-\Delta\Delta\text{CP}}$$