

MANUAL DE NORMAS DE BIOSEGURIDAD Y RIESGOS ASOCIADOS

Versión 2018

Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados – Fondecyt – CONICYT

Comité de Actualización

Mario Chiong Lay	- Universidad de Chile – Coordinador Comité Actualización Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados- Comités de Ética Científica Fondecyt-CONICYT
Andrea Leisewitz Velasco	- Pontificia Universidad Católica de Chile
Fernando Márquez Romegialli	- Universidad de Concepción
Leslie Vironneau Janicek	- Comisión Chilena de Energía Nuclear (CCHEN)
Marco Álvarez Santana	- Universidad Andrés Bello
Nicole Tischler	- Fundación Ciencia & Vida
Osvaldo Piñones Olmos	- Comisión Chilena de Energía Nuclear (CCHEN)
Ricardo Moreno Mauro	- Pontificia Universidad Católica de Chile

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO	3
ÍNDICE DE FIGURAS	9
ÍNDICE DE TABLAS	10
PRESENTACIÓN.....	11
1. INTRODUCCIÓN.....	13
2. OBJETIVO GENERAL	15
3. DEFINICIONES.....	16
3.1. Bioseguridad.....	16
3.2. Seguridad en el laboratorio	16
3.3. Riesgos y peligros	22
4. ORGANIZACIÓN DE UN PLAN DE BIOSEGURIDAD EN LAS INSTITUCIONES.....	25
4.1. Introducción	25
4.2. Comité Institucional de Bioseguridad (CIB).....	25
4.3. Manual de procedimientos de la institución	27
5. SUSTANCIAS BIOLÓGICAS.....	29
5.1. Evaluación del riesgo biológico.....	29
5.2. Laboratorios de bioseguridad.....	32
5.2.1. Almacenamiento y custodia	35
5.2.2. Infraestructura y equipos de los laboratorios de bioseguridad.....	37
5.2.3. Prácticas en laboratorios de bioseguridad.....	41
5.2.4. Equipos de protección personal (EPP) en laboratorios de bioseguridad	45
5.2.5. Desechos biológicos.....	46
5.2.6. Manejo de los desechos biológicos	48

5.2.6.1. Segregación	48
5.2.6.2. Almacenamiento o conservación	48
5.2.6.3. Descontaminación de los desechos biológicos	49
5.2.6.4. Recolección y transporte.....	54
5.2.6.5. Disposición final	54
5.2.7. Incidentes con material biológico.....	54
5.3. Bioterios o laboratorios de bioseguridad para animales (ABSL).....	56
5.4. Agentes de riesgo biológico	61
5.4.1. Bacterias	61
5.4.2. Virus.....	63
5.4.3. Vectores virales.....	64
5.4.4. Hongos.....	66
5.4.5. Protozoos.....	69
5.4.7. Animales de experimentación, animales infectados y muestras derivadas	70
5.4.8. Líneas celulares y cultivos	72
5.4.9. Plantas de experimentación, plantas infectadas y muestras derivadas.....	72
5.4.10. ADN recombinante y sintetizado <i>de novo</i>	77
5.4.10.1. Normas y barreras biológicas específicas.....	79
5.4.10.2. Trabajos con ADN-r en agentes etiológicos	88
5.4.11. Organismos genéticamente modificados.....	88
5.4.12. Priones	92
5.4.13. Biotoxinas	93
5.4.13.1. Evaluación de riesgo y bioseguridad de biotoxinas.....	93
5.4.13.2. Biotoxinas clasificadas como agentes selectos	94
5.4.13.3. Manipulación de biotoxinas	95

5.4.13.4. Descontaminación de biotoxinas	96
6. SUSTANCIAS QUÍMICAS Y RESIDUOS	98
6.1. Clasificación internacional y nacional de sustancias peligrosas	98
6.1.1. Sistema reglamento transporte Naciones Unidas.....	98
6.1.2. Sistema global armonizado de Naciones Unidas.....	99
6.1.3. Clasificación nacional de sustancias peligrosas.....	101
6.2. Almacenamiento de sustancias peligrosas	106
6.2.1. Reglamento de almacenamiento de sustancias peligrosas.	106
6.2.2. Almacenamiento en pequeñas cantidades	106
6.2.2.1. Prácticas estándar de seguridad en un laboratorio que trabaja con sustancias químicas.....	108
Se recomienda tener en cuenta las siguientes precauciones:	108
6.2.2.2. Condiciones de almacenamiento y traslado de agentes químicos	109
6.2.3. Fichas de seguridad de sustancias peligrosas	110
6.3. Normas generales de trabajo con sustancias peligrosas	111
6.3.1. Elementos de protección personal	111
6.3.1.1. Requisitos de los elementos de protección personal.....	111
6.3.1.2. Clasificación de los elementos de protección personal.....	112
6.3.2. Manejo de residuos peligrosos.....	121
6.3.2.1. Categorías de residuos peligrosos	121
6.3.2.2. Manejo de residuos químicos.....	122
6.3.3. Límites Permisibles	125
7. SUSTANCIAS RADIATIVAS Y RADIACIONES IONIZANTES.....	128
7.1. Introducción	128
7.2. Objetivo.....	128

7.3. Aplicación	128
7.4. Organización y responsabilidades	129
7.4.1. Titular y responsable de instalación radiactiva	129
7.4.2. Usuarios de material radiactivo.....	130
7.5. Medidas fundamentales de protección radiológica.....	131
7.6. Principios de la protección contra las radiaciones ionizantes	132
7.6.1. Tiempo.....	133
7.6.2. Distancia	133
7.6.3. Blindaje.....	134
7.6.4. Sustitución.....	135
7.7. Sistemas seguros de trabajo con radionúclidos.....	135
7.7.1. Zona de radiaciones.....	136
7.7.2. Zona de mesas de trabajo.....	137
7.7.3. Desechos radiactivos.....	138
7.7.4. Gestión de los residuos generados	139
7.7.5. Métodos de descontaminación.....	140
7.7.6. Registros y situaciones de exposición de emergencia	145
7.7.6.1. Responsabilidades.....	145
7.7.6.2. Planes de emergencia.....	145
7.7.6.3. Personal implicado	146
7.7.6.4. Fases del plan de emergencia.....	147
7.8. Laboratorios con equipos generadores de rayos X.	147
7.9. Instalaciones con equipos de rayos X con fines de diagnóstico médico.....	148
8. MANEJO DE EMERGENCIAS EN LABORATORIOS.....	149
8.1. Manejo de emergencias químicas.....	149

8.1.1. Incendios.....	149
8.1.2. Derrame o fuga de químicos	149
8.1.3. Desalojo o refugio en el lugar	149
8.2. Consideraciones durante una emergencia.....	152
8.2.1. Medidas de acción inmediata.....	152
8.2.2. Medidas de acción temprana y oportuna.....	153
8.2.3. Plan nacional para enfrentar emergencias o desastres con sustancias o materiales peligrosos.....	159
8.3. Riesgos eléctricos	159
8.4. Ruido.....	160
8.5. Uso de gases en los laboratorios.....	160
8.5.1. Identificación de los gases	160
8.5.2. Toxicidad	161
8.5.3. Efectos fisiológicos potenciales de una atmósfera gaseosa	162
8.5.4. Detección de fugas de gases	163
8.5.5. Gases a alta presión	164
8.5.6. Inflamabilidad de gases	165
8.5.7. Límites de inflamabilidad.....	165
8.5.8. Precauciones en el manejo de gases inflamables.....	166
8.5.9. Factores de riesgos en el manejo de gases criogénicos	168
9. LIBERACIÓN DE PRODUCTOS RIESGOSOS	170
9.1. Liberación intencionada	170
9.1.1. Liberación intencionada con fines terroristas	170
9.1.2. Liberación intencionada con fines experimentales	171
9.1.2.1 Sustancias de riesgo químico.	171

9.1.2.2. Sustancias de riesgo radioactivas	172
9.1.2.3. Organismos genéticamente modificados (OGM)	174
9.1.2.4 Estudios pre-clínicos y de campo en voluntarios con vacunas vivas atenuadas y/o genéticamente modificadas.....	175
9.2. Liberación accidental	176
10. ANEXOS	177
10.1. Anexo 1. Modelo de formulario de bioseguridad. Basado en el Formulario de Bioseguridad del Comité de Seguridad, Pontificia Universidad Católica. Elaborado por Valentina Seguel.	177
10.2. Anexo 2. Documento de autoinstrucción.	189
10.3. Anexo 3. Gabinetes de bioseguridad.....	193
10.4. Anexo 4: Ejemplo de ficha de seguridad de agentes infecciosos y niveles de riesgo: Hantavirus.	194
10.5. Anexo 5. Biotoxinas más comunes y sus LD ₅₀	201
10.6. Anexo 6. Ejemplo de Ficha de Dato de Seguridad (FDS). Solución de acrilamida-bisacrilamida. Merck	204
10.7. Anexo 7. Tabla de Incompatibilidades Químicas	219
10.8. Anexo 8. Tabla de Radionúclidos mayormente usados en centros de investigación y sus posibles residuos generados.	221
10.9. Anexo 9. Primeros auxilios.	222
11. Referencias.....	223

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Señal de advertencia de peligro biológico para las puertas del laboratorio.	33
Figura 2.	Símbolo Internacional de Riesgo Biológico.....	36
Figura 3.	Ejemplos de etiquetas de peligro.....	37
Figura 4.	Símbolos de peligro normalizados.	101
Figura 5.	Pictogramas de la clasificación general de las sustancias de acuerdo al riesgo más significativo que presentan en el transporte, en su manipulación y almacenamiento.	106
Figura 6.	Pantalla.....	113
Figura 7.	Tipos de lentes.	114
Figura 8.	Guantes.....	115
Figura 9.	Adaptadores faciales.....	118
Figura 10.	Mascarilla autofiltrante.....	119
Figura 11.	Equipo de autosalvamento.	120
Figura 12.	Protección radiológica.....	132
Figura 13.	Elementos de protección radiológica.	135
Figura 14.	Símbolo internacional de la radiación	137
Figura 15.	Señalización para el transporte de material radiactivo.	138
Figura 16.	Diagrama de flujo de cómo enfrentar una emergencia con sustancias químicas.....	151
Figura 17.	Sistemas de detección de fugas en cañerías de laboratorios	163
Figura 18.	Límites inferiores y superiores de inflamabilidad de los gases.	166
Figura 19.	Almacenamiento de gases.....	168

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación de los microorganismos por grupos de riesgos.	31
Tabla 2.	Clasificación del nivel de biocontención según agente biológico.	35
Tabla 3.	Resumen de requisitos por nivel de bioseguridad*	41
Tabla 4.	Elementos de protección personal según laboratorio de bioseguridad.	46
Tabla 5.	Manejo de desechos biológicos según nivel de bioseguridad*	50
Tabla 6.	Procedimientos recomendados para diferentes tipos de incidentes con material potencialmente infeccioso	55
Tabla 7.	Niveles de contención de los bioterios: Resumen de los procedimientos y medidas de seguridad.....	58
Tabla 8.	Priones y recomendaciones del nivel de bioseguridad.	92
Tabla 9.	Biotoxinas clasificadas como agentes selectos y niveles de exención.	95
Tabla 10.	Resistencia química de guantes.....	116
Tabla 11.	Clasificación según las características de peligrosidad de los residuos químicos.....	123
Tabla 12.	Espesor necesario de blindaje que permite reducir la radiación al 50%.	134
Tabla 13.	Toxicidad según tipo de material radiactivo.	140
Tabla 14.	Clasificación según Radiotoxicidad	140
Tabla 15.	Medios a emplear en función de la superficie	142
Tabla 16.	Medios a emplear en función del radioisótopo (usados más frecuentemente)	143
Tabla 17.	Métodos de descontaminación según las partes del cuerpo.	144
Tabla 18.	Atmósferas deficientes en oxígeno.....	162
Tabla 19.	Efectos potenciales de exposiciones a monóxido de carbono	163

PRESENTACIÓN

Las normas de bioseguridad contenidas en este Manual son entregadas a la comunidad científica como herramienta de apoyo que permita ser eficaz a la hora de encontrar los requerimientos de bioseguridad de cada área de desarrollo, y así velar por la correcta manipulación en el laboratorio, cumpliendo la normativa legal existente. Es de vital importancia que los investigadores, principalmente los más jóvenes que se integran a la comunidad científica, comprendan el valor del cumplimiento de las normativas aquí entregadas y su relevancia en las buenas prácticas del quehacer científico. Especialmente, que sea recibido como una guía de ayuda en la elaboración de sus proyectos de investigación y que les permitirá investigar respetando la integridad personal, de su entorno y del medio ambiente.

Para la actualización del presente Manual, los Consejos Superiores de Ciencia y Desarrollo Tecnológico del Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (Fondecyt) de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), establecieron la conformación del Comité y sus integrantes, según acuerdo adoptado en su Sesión del 24 de enero de 2017.

Para realizar el trabajo encomendado, el Comité revisó el contenido y estructura de la segunda edición del Manual de Normas de Bioseguridad de Fondecyt (año 2008), distribuyendo entre sus integrantes, las temáticas para el proceso de revisión. Asimismo, fijó un cronograma de reuniones, y en una de ellas cuales, fue presentado al Presidente del Consejo y a la Dirección de Fondecyt, el estado de avance del trabajo de actualización.

Como resultado de la revisión antes citada, el Comité sumó otras temáticas, actualizó y agregó nuevas normativas e introdujo modificaciones que estimó necesarias, con el propósito de entregar a la Dirección de Fondecyt, a los Consejos Superiores del Programa y a CONICYT, un manual integral que contribuya a la



regulación de la práctica de la investigación, que estimula y promueve Fondecyt para el desarrollo del trabajo científico y tecnológico básico.

Adicionalmente, el Comité entrega en el Manual valiosas recomendaciones para la mejor y segura ejecución de las actividades de investigación, teniendo en cuenta que los temas de bioseguridad, no solo debieran ser considerados en los laboratorios, sino en todos los lugares donde se realice investigación.

1. INTRODUCCIÓN

Como toda actividad humana, la investigación científica conlleva una serie de comportamientos y conductas inherentes que caracterizan al investigador y, le permiten realizar con éxito, su labor en búsqueda de nuevo conocimiento o mejoramiento tecnológico, para el bien de la sociedad. Desde el punto de vista de la ética, la actividad científica está regida por una serie de códigos y normas, que son impartidas por distintas entidades y que aseguran un buen proceder en aspectos tales como la honestidad, manejo y adquisición de datos, relaciones interpersonales y autoría en las publicaciones. Estas normas y códigos, manifestadas en la declaración de Singapur (2a Conferencia Mundial sobre Integridad en la Investigación, 21-24 de julio de 2010, Singapur) han emergido desde el mismo seno de la comunidad científica como una manera de limitar las malas prácticas y salvaguardar la ética en la investigación. Por lo tanto, una de las características del correcto proceder de un investigador es apegar a estas normas de conducta, dado que aseguran un buen ambiente de trabajo y garantizan la confiabilidad y seguridad en los resultados que se obtienen.

Las buenas prácticas en la actividad científica, se reflejan en una serie de actitudes como mantener el laboratorio ordenado, usar ropa adecuada, usar guantes y protección visual cuando corresponda, lo que muestra una preocupación hacia la integridad misma del propio investigador, de sus compañeros de trabajo y del entorno que lo rodea. Esto se debe a que muchos de los reactivos o procedimientos, que se utilizan en un laboratorio de investigación, reportan peligro para los seres vivos y pueden alterar su biología o ecosistema. De esta forma, la ejecución de una investigación científica podría conllevar riesgos inherentes que pueden afectar en forma directa al mismo investigador y/o su entorno. Más aún, durante el transcurso de una investigación científica es posible que se desarrollen nuevos productos o procedimientos (químicos, drogas, cepas modificadas de patógenos, etc.) que, potencialmente, pueden poner en riesgo la salud animal y humana. Por tanto, hay una responsabilidad social del científico en contener estos productos a nivel de laboratorio, para evitar que estos puedan causar efectos nocivos e imprevistos tanto al mismo investigador como a la población en general. Esto

trae como consecuencia que, para la realización de cualquier actividad experimental, el investigador deba conocer de antemano cada uno de los elementos y equipos que manipulará para manejarlos con la seguridad que ellos requieren y evitar posibles accidentes. Todo lo anterior, determina que la bioseguridad en el laboratorio, sea uno de los pilares fundamentales para el cumplimiento de las buenas prácticas en el trabajo de investigación científica, permitiendo dar cumplimiento a los diferentes códigos, normas de ética y la regulación nacional e internacional aplicable en la investigación.

Las normas de bioseguridad que se entregan en el presente Manual, ha sido concebidas como una herramienta de apoyo para llevar a cabo investigación científica basada en proyectos de investigación Fondecyt, que encauce experimentos, de acuerdo a la normativa legal vigente en Chile y las recomendaciones internacionales. De esta manera, el presente Manual facilita la labor de investigación en un ambiente seguro, permitiendo al investigador trabajar con diversos tipos de reactivos, compuestos, organismos y/o procedimientos, aún cuando ellos puedan ser nocivos para la salud.

Bajo este precepto, cabe la pregunta:

¿Por qué seguir las normas de bioseguridad de este Manual?

- Facilita mi investigación, dado que contribuye al trabajo en un ambiente seguro.
- Es una fuente de conocimiento acerca del material biológico, químico y radiológico, que estoy usando en mis experimentos.
- Indica cómo manipular, usar y desechar agentes biológicos, químicos o físicos necesarios para el experimento de interés, sin dañar mi integridad personal, la de mis compañeros o del entorno.

2. OBJETIVO GENERAL

El objetivo de este Manual es establecer las medidas y prácticas de trabajo que permitan minimizar el riesgo para los investigadores, alumnos, técnicos y toda persona que trabaje en laboratorios y, que participe como personal vinculado a los proyectos que reciben financiamiento, a través de los diferentes concursos de Fondecyt. Además, con el Manual se busca fijar criterios para el trabajo con agentes que generen algún riesgo.

Es importante tener en cuenta que, independiente del tipo de laboratorio en que se esté trabajando, existen prácticas transversales las cuales debieran ser cumplidas por todo el personal del laboratorio y durante todos los procesos que en él se desarrollen.

Para comprender, especificar medidas e implementar prácticas se hace necesario contar con algunas definiciones, que se entregan a continuación.

3. DEFINICIONES

3.1. Bioseguridad

Principios, técnicas y prácticas de seguridad, biocontención y biocustodia:

Se llevan a cabo para evitar la exposición involuntaria a material de riesgo o su liberación accidental (de acuerdo a las normas establecidas por el European Committee for Standardization Workshop Agreement; CWA 15793:2011) [1].

3.2. Seguridad en el laboratorio

El laboratorio debiera establecer la simbología a utilizar de acuerdo con sus necesidades y los procedimientos de seguridad y bioseguridad establecidos. En general los accesos a las diferentes dependencias del laboratorio debieran contar con señalética adecuada. Las señales de uso habitual corresponden a las siguientes (se muestran algunos ejemplos):

✓ Uso de delantal



✓ Uso de pechera



✓ Uso de mascarilla



✓ Uso de calzado de seguridad



- ✓ Protección ocular



- ✓ Protección facial



- ✓ Temperatura extrema calor/quemaduras



- ✓ Temperatura extrema/congelación



- ✓ Uso de guantes



- ✓ Protección acústica



- **Prácticas de seguridad** (extraído de Módulo de Autoinstrucción Seguridad en Laboratorios-Comité Institucional de Seguridad en Investigación, PUC).
- Todas las personas que trabajen en el laboratorio debieran registrar sus datos de contacto propio y de terceros para casos de emergencias, además de su seguro de salud y si padecen de alguna condición física o médica permanente o transitoria, que podría afectar su susceptibilidad a riesgos de laboratorios.

- Todas las personas que trabajen en el laboratorio, participen, o no, en procedimientos donde se involucren agentes de riesgo, debieran estar informadas de las medidas de seguridad correspondientes.
- El laboratorio debiera contar con protocolos visibles para emergencias y accidentes.
- El acceso al laboratorio debiera estar restringido. En la puerta debiera estar indicado el tipo de riesgo mediante la señalética adecuada.
- Debiera estar estrictamente prohibido comer alimentos o beber líquidos dentro de las áreas de trabajo.
- Debiera estar estrictamente prohibido el almacenamiento de alimentos en los refrigeradores destinados a investigación.
- Todos los laboratorios debieran mantenerse limpios y libres de materiales no relacionados con el trabajo como decoración, plantas, fotos, etc.
- Todos los laboratorios debieran contar a lo menos con un lavamanos.
- Todos los laboratorios debieran tener acceso a una ducha de seguridad y a un lavaojos de emergencia. (Se recomienda revisar donde se encuentra la más cercana)
- Todos los laboratorios debieran contar con un inventario actualizado de productos químicos, incluyendo las fichas de seguridad de todos ellos.
- No se debiera utilizar alargadores salvo que sea imprescindible y por un tiempo limitado.
- No se debiera ubicar equipos y/o tomas eléctricas cerca de fuentes de agua, agentes corrosivos o inflamables.
- Al terminar el trabajo, debiera asegurarse de desconectar los aparatos eléctricos y cerrar las conexiones a gas.
- Al finalizar una tarea u operación, debiera recogerse los materiales, reactivos, equipos, etc., evitando las acumulaciones innecesarias.
- En los mesones de trabajo no debiera colocarse materiales de escritorio ni libros, ya que el papel contaminado es de difícil esterilización o desinfección.

- En el caso de tener dentro del laboratorio algún tipo de fuente de radiación, ésta debiera estar identificada con la señalética correspondiente.

¿Qué prácticas personales se debieran aplicar dentro del laboratorio?

- Debiera ser obligatorio el uso de delantal dentro del laboratorio.
- De forma general, siempre que se trabaje en el laboratorio debiera utilizarse guantes y protección ocular.
- Debiera ser obligatorio el uso de pantalones o vestidos largos y zapatos cerrados.
- Debiera lavarse las manos después de terminar cada procedimiento, al cambiar de tarea y al salir del laboratorio.
- No se debiera utilizar en ningún caso la ropa de trabajo como delantal, guantes, etc. fuera del laboratorio.
- Debiera estar prohibido llevarse las manos a la cara, pelo, lentes cuando se esté trabajando en el laboratorio.
- Cuando se utilicen guantes, éstos debieran ser desechados antes de tocar otro objeto limpio como celular, computador, manilla de la puerta, etc.
- Debieran utilizarse dispositivos para pipetear y jamás debiera utilizarse la boca para estos propósitos.
- Las personas que tengan el pelo largo debieran llevarlo amarrado y la cara debiera estar despejada.
- No debiera estar permitido aplicar maquillaje dentro del laboratorio.
- No debiera apoyarse mochilas, carteras ni ropa (como chalecos, chaquetas) en los mesones de trabajo. Guardarlos en cajoneras o *lockers*, dispuestos para tales fines.
- Se recomienda no utilizar pulseras, anillos o mangas anchas, mientras se realizan procedimientos experimentales.
- Se recomienda no utilizar lentes de contacto en el laboratorio.
- En el caso de trabajo con algún tipo de fuente de radiación, debiera conocerse las medidas de protección radiológica correspondiente a su uso.

- **Biocontención:**

Conjunto de medidas que incluyen la contención biológica, química y radiológica, las prácticas, el equipamiento y los dispositivos de seguridad de las instalaciones que protegen a los trabajadores del laboratorio así como a la población circundante de la exposición al material biológico, químico y radiológico, cuando se almacene o trabaje con él [1].

- **Bioprotección y biocustodia:**

Protección, control y seguimiento de los materiales biológicos, químicos y radiológicos dentro de los laboratorios y su transporte, para evitar su pérdida, robo, uso indebido, desviación, acceso no autorizado o liberación intencional no autorizada [1].

- **Responsabilidades**

- *Institución*: Es responsable de adoptar las medidas necesarias para proteger eficazmente la vida y salud de todas las personas que se encuentran al interior de sus dependencias, realizando actividades que sean competentes a su quehacer. De acuerdo a la Ley N°16.744 de 2015, del Ministerio del Trabajo y Previsión Social; Subsecretaría de Previsión Social, se establece la obligatoriedad de contar un “Seguro Social contra Riesgos de Accidentes del Trabajo y Enfermedades Profesionales” [2]. Esta Ley se aplica a todos los trabajadores de la institución y los estudiantes que estén realizando sus estudios o prácticas profesionales en ella. Establece cuáles son las prestaciones médicas y económicas a las que tienen derecho los trabajadores protegidos por este seguro de accidente del trabajo en caso de que sufran un accidente laboral o enfermedad profesional.
- *Comité Institucional de Bioseguridad (CIB)*: Es responsable de realizar las evaluaciones de seguridad de los proyectos de investigación que lo requieran. Además, sería responsable de entregar la correspondiente información y capacitación en riesgos físicos, químicos o biológicos, que sean atingentes a la

institución. Debiera proponer y definir políticas de seguridad de investigación en la institución, a través de un Manual de Procedimientos de la Institución. La realización de estas actividades puede ser apoyada por Comités de Bioseguridad locales (si cada institución así lo decidiera).

- Director del laboratorio: Es el principal responsable de la seguridad de los integrantes que ingresen a trabajar en el laboratorio, así como responder ante situaciones de accidentes o emergencias que ocurran dentro de las instalaciones que tenga bajo su responsabilidad. Está a cargo de comunicar y supervisar el cumplimiento de la legislación nacional vigente y las normativas institucionales en temas de seguridad. Una vez que ingrese a trabajar en el laboratorio un técnico de laboratorio, estudiante de pasantía o unidad de investigación, tesista de pregrado/posgrado, postdoctorante, asistente de investigación, sería deber del Director del laboratorio informar de los riesgos y peligros al que estará expuesto por el solo hecho de trabajar ahí o debido a las actividades específicas que debe realizar al interior de él. Es necesario, además, tener en el laboratorio a la vista una Matriz de Identificación de Peligros y Riesgos (MIPER), vinculada con todas las actividades de investigación que en él se realizan. En caso de ser necesario, será responsable de crear normativas y procedimientos específicos para su laboratorio, informando oportunamente de ellos al CIB. Puede delegar la función en un Encargado de Seguridad del laboratorio.
- Encargado de laboratorio: Es responsable de velar por la implementación y cumplimiento de las normativas indicadas por el Director del laboratorio. En caso que el laboratorio no cuente con un encargado, el Director del laboratorio personalmente debiera asumir esta tarea.
- Integrantes del equipo de trabajo (académicos, profesionales, técnicos, alumnos, etc.): Son responsables de cumplir todas las normas y protocolos establecidos en la Institución y en el laboratorio.

3.3. Riesgos y peligros

Con el objeto de implementar la gestión de riesgos y velar por el cumplimiento de los procesos que en ella se consideran, se recomienda designar en el laboratorio una persona responsable o encargada. En primera instancia, el Director del laboratorio o el Encargado de laboratorio serían los llamados a realizar esta tarea. Es importante que la persona, a quien se asigne esta responsabilidad, tenga las competencias necesarias y esté familiarizada con los agentes o sustancias manejadas en el laboratorio [3].

- **Riesgo:** Probabilidad de ocurrencia de un peligro.
- **Peligro:** Capacidad intrínseca o potencial de producir un daño. Se refiere a la fuente potencial de daño. En el laboratorio el peligro principal son los agentes que se manipulan, sin embargo, deben considerarse otros riesgos que pudieran estar presentes en el lugar de trabajo [3].
- **Agentes de riesgo:** Elementos que pueden causar un daño en un ámbito específico. En un laboratorio nos podemos encontrar con los siguientes agentes de riesgo:
 - o Biológicos (ej. microorganismos, muestras humanas o animales, organismos genéticamente modificados).
 - o Químicos (ej. tóxicos, corrosivos, irritantes, peligrosos para el medio ambiente).
 - o Radiológicos (ej. radiaciones ionizantes, no ionizantes).

Es posible trabajar con todos estos agentes de riesgo siempre y cuando se utilicen las medidas de seguridad apropiadas. Estas medidas incluirían:

- prácticas apropiadas de laboratorio
 - elementos de protección personal
 - equipos de protección
 - otros.
- **Análisis de riesgo:** para lograr trabajar de manera segura, se recomienda que todos los integrantes del laboratorio sepan identificar a qué riesgos se exponen. En este contexto, las preguntas que uno debiese hacerse son:

- o ¿Con qué trabajo? Identificación de posibles riesgos (evaluación del riesgo).
- o ¿Qué podría ocurrir? Peligro o amenaza y consecuencias posibles. Identificar la información correspondiente (ej. Fichas de seguridad de productos)
- o ¿Cuál es la probabilidad de que ocurra?
- o ¿Qué medidas se toman para que no ocurra? Mitigación del riesgo: instancias de capacitación, elementos de protección personal, estandarización de procedimientos, mantención equipos (barreras).
- o ¿Es aceptable el riesgo?

El Instituto de Salud Pública de Chile recomienda valorar los riesgos detectados ya que permite establecer y planificar las medidas de mitigación que serán empleadas para controlarlo [3]. Para esta valoración, es necesario considerar las probabilidades de ocurrencia y las consecuencias del riesgo.

Las probabilidades de ocurrir pueden ser clasificadas en cuatro grupos: Muy alta (A), Alta (B), Media (C), Baja (D):

A: Se espera que el evento ocurra la mayoría de las veces.

B: El evento podría ocurrir alguna vez.

C: El evento podría ocurrir, pero muy rara vez.

D: El evento puede ocurrir, pero es probable que nunca ocurra.

Las consecuencias se pueden clasificar como Mayores, Moderadas, Menores o Insignificantes.

Por ejemplo, si la probabilidad de ocurrir el riesgo es muy alta y las consecuencias son mayores, entonces el riesgo es extremo. Para otro caso la probabilidad de ocurrencia puede ser Media, sin embargo, la consecuencia puede ser mayor, entonces el riesgo es medio.

- **Mitigación del riesgo:** son medidas que se toman para disminuir el riesgo detectado. El Manual de Bioseguridad del ISP propone las acciones que se pueden tomar [3]:

- o Eliminación o sustitución: medidas para eliminar completamente el peligro (por ejemplo, no hacer el trabajo previsto) o realizar otro que disminuya el riesgo.
- o Controles de ingeniería: modificaciones físicas de las estaciones de trabajo, equipos, materiales, instalaciones, que reduzcan o prevengan la exposición a peligros o amenazas.
- o Controles administrativos: generación de políticas, normas o directrices utilizadas para controlar los riesgos. Permiten un enfoque institucional en el que influye el factor humano.
- o Estandarización y generación de procedimientos: permite normalizar los procesos, requiriendo capacitación y supervisión continua del personal.
- o Elementos de protección personal: objetos que porta el trabajador para protegerse de peligros en el laboratorio. Son de fácil obtención y uso, sin embargo, el uso inadecuado no descarta totalmente el riesgo.

Una vez terminadas las evaluaciones del riesgo, éstas debieran ser consultadas periódicamente y revisadas, cada vez que sea preciso, teniendo en cuenta la obtención de nuevos datos que tengan alguna influencia en el grado de riesgo y toda nueva información pertinente, que aparezca en las publicaciones científicas.

4. ORGANIZACIÓN DE UN PLAN DE BIOSEGURIDAD EN LAS INSTITUCIONES.

4.1. Introducción

La aplicación de un plan de Bioseguridad requeriría, necesariamente, de una organización institucional que vigile el cumplimiento de las normativas establecidas. De esta forma, se recomienda que cada institución constituya un **Comité Institucional de Bioseguridad (CIB)** que se encargue de formular las políticas y prácticas internas en materia de bioseguridad, examinar los protocolos de investigación, evaluación de riesgos, vigilancia y solución de controversias que sean consonante con el Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados-Fondecyt-CONICYT 2018. Se sugiere también que cada institución cuente con al menos un Manual de procedimientos institucional en base a las Normativas internacionales y lo establecido en el presente documento.

4.2. Comité Institucional de Bioseguridad (CIB)

Se recomienda que todas las instituciones públicas o privadas, que desarrollan investigación básica o aplicada, y que trabajan en campos definidos como de riesgo para la seguridad personal, comunitaria o ambiental, implementen un CIB. En el caso de no contar con un CIB, una autoridad competente de la Institución (Decano, Director(a) de Investigación, u otra autoridad) podría suplir la función y responsabilidades del CIB. El CIB es el responsable de todos los aspectos de bioseguridad de la institución. Debiera constituirse como el nivel primario de responsabilidad frente a su personal y a la comunidad que podría verse afectada directa o indirectamente, en caso de no observarse las normativas establecidas en el Manual. Se recomienda que el CIB sea oficializado por las autoridades internas de la institución, a través de un decreto universitario o resolución equivalente, de manera de otorgar el respaldo institucional al estamento. El CIB debiera ser autónomo e independiente en la toma de decisiones y los integrantes que lo componen debiera ejercer su función a título personal.

De acuerdo a las características propias de organización y tamaño de las instituciones, se sugiere establecer un CIB de carácter central, el cual puede ser apoyado por Comités de Bioseguridad locales (si cada institución así lo decidiera), de modo de poder atender oportunamente, las necesidades de los investigadores y el control de las actividades.

La composición del CIB debiera incluir personas con diferentes competencias provenientes de las distintas áreas de la organización. Un CIB debiera incluir al menos los siguientes especialistas:

1. Prevencionista de riesgos
2. Integrante del área científica
3. Integrante del área médico-clínico, cuando corresponda
4. Integrante del área veterinaria, cuando corresponda
5. Integrante del área química, cuando corresponda
6. Integrante del área radiológica, cuando corresponda
7. Integrante de la dirección de laboratorios

En caso de ser necesario, el CIB debiera recurrir al asesoramiento de distintos especialistas y funcionarios de otros departamentos (protección radiológica, seguridad industrial, prevención de incendios, etc.), así como también, del asesoramiento de expertos independientes, autoridades locales y organismos nacionales.

El CIB debiera:

1. Velar por el cumplimiento de las normativas establecidas en el Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados-Fondecyt-CONICYT 2018.
2. Publicar y/o actualizar el Manual de procedimientos de la institución.
3. Mantener un programa permanente de inspección y evaluación de las instalaciones y procedimientos, desarrollados por la institución usuaria de la investigación básica o aplicada.
4. Colaborar con el Comité Paritario de la Institución con el propósito de velar por la adecuada y oportuna capacitación del personal.
5. Mantener un registro de las actividades de la Institución (investigación y/o I&D), con una descripción de los proyectos de investigación en desarrollo, las

recomendaciones y fiscalizaciones realizadas. La información del registro debiera estar accesible a CONICYT, cuando sea necesario, especialmente en aquellos proyectos que financie parcial o totalmente esta institución. En este contexto, en el presente Manual se incluye en Anexos un “Formulario de Solicitud Certificado de Bioseguridad” en formato editable, a completar por los investigadores, el cual se sugiere utilizar, y adaptar en el caso necesario, para mantener el registro de actividades de la institución y el seguimiento correspondiente (Anexo 1).

6. Mantener un programa permanente de capacitación a los integrantes de la institución y un programa de inducción inicial a los nuevos integrantes de laboratorios respecto a actividades que se desarrollan en laboratorios (Ej. autoinstructivo Anexo 2).

4.3. Manual de procedimientos de la institución

Un Manual de Procedimientos de la Institución constituye un importante elemento de trabajo dentro de cada entidad, en el cual debiera establecerse claramente los procedimientos específicos y acciones de contención frente a riesgos que se presenten durante el trabajo en los laboratorios de investigación y/o desarrollo de carácter biológico, bioquímico o biotecnológico. Su contenido debiera estructurarse de acuerdo a las grandes áreas de interés de la Bioseguridad, pudiendo constituir un único Manual o bien manuales independientes para cada área (por ejemplo, Manual de procedimientos para el manejo de isótopos radiactivos, para el manejo de DNA recombinante, etc.). Además, debiera contener un glosario de términos que facilite la comprensión y homogeneidad del lenguaje técnico y consecuentemente evitar equívocos. Cada CIB debiera preocuparse de la difusión al interior de la institución del presente Manual y del o los Manual/es de Procedimientos de la Institución, ya sea a través de la página WEB institucional o proveyendo una copia, al investigador que lo solicite.

Sin entrar en detalles sobre la redacción de un Manual de Procedimientos, su contenido debiera orientarse al menos dentro de los siguientes aspectos:

1. Introducir y especificar los objetivos de bioseguridad.
2. Identificar la organización del CIB dentro de la institución.
3. Realizar recomendaciones para el uso y seguridad, de acuerdo con las actividades de los laboratorios respectivos y con las características propias de la institución. Debiera especificar los procedimientos explícitos para cada actividad relacionada con Bioseguridad. Además, debiera indicar el nombre de lo(s) encargados de áreas específicas, lugares físicos de uso exclusivo, señalética, formas de desecho de sustancias químicas, de material biológico, objetos corto-punzantes, etc.
4. Recomendar los procedimientos para realizar las inspecciones destinadas a evaluar las instalaciones de investigación y los procedimientos de bioseguridad asociados.

5. SUSTANCIAS BIOLÓGICAS

5.1. Evaluación del riesgo biológico

A diferencia de los agentes de riesgo químico o radiológico, los agentes biológicos con los que se trabaja en los laboratorios son diversos, presentan diferentes niveles de peligrosidad y, dada las técnicas actuales, es posible diseñar, manipular y crear variaciones genéticas de algunos de estos agentes, cambiando así su peligrosidad.

Por lo anterior, es que debiera realizarse un análisis de riesgo para los agentes biológicos y re-evaluar periódicamente este análisis.

La peligrosidad de un agente biológico está directamente relacionada con el tipo de manipulación a la que es sometido. Por ello, es básico: (extraído del Módulo de Autoinstrucción Seguridad en Laboratorios-Comité Institucional de Seguridad en Investigación, PUC):

- Conocer los agentes, sustancias y productos peligrosos que existen en el laboratorio;
- Conocer la metodología de trabajo y los protocolos de seguridad establecidos;
- Conocer el equipamiento del laboratorio y su forma de uso seguro;
- Conocer la normativa relacionada con la seguridad biológica y las medidas de emergencia;
- Respetar y hacer cumplir todo lo anterior involucrándose personalmente en la prevención de riesgos.

Para realizar un análisis de riesgo se debieran considerar al menos los siguientes factores:

1. La patogenicidad del agente y la dosis a la cual ejerce su efecto.
2. El resultado potencial de la exposición.
3. La vía natural de infección.
4. Otras vías de infección, derivadas de manipulaciones en el laboratorio (parenteral, aérea, ingestión).
5. La estabilidad del agente en el ambiente.

6. El volumen y concentración del agente que va a manipularse.
7. La presencia de un hospedero apropiado (personas o animales).
8. La información previa disponible de estudios y de notificaciones de infecciones adquiridas en el laboratorio o de informes clínicos.
9. La actividad que se realizará en el laboratorio (ej., obtención de lisados con ultrasonido, producción de aerosoles, centrifugación, entre otras).
10. Toda manipulación genética del microorganismo que pueda ampliar su gama de hospederos o reducir su sensibilidad a los regímenes terapéuticos eficaces conocidos.
11. Disponibilidad local de intervenciones profilácticas o terapéuticas eficaces.

En general, las fuentes principales de riesgo biológico son:

- Microorganismos bacterianos.
- Virus.
- Vectores virales.
- Muestras humanas.
- Animales de experimentación, animales infectados y muestras derivadas.
- Líneas celulares y cultivos.
- Plantas de experimentación y plantas infectadas y muestras derivadas.
- ADN recombinante y sintetizado *de novo*.
- Organismos genéticamente modificados.
- Priones.
- Biotoxinas.

La fuente de riesgo biológico más importante son los microorganismos, los cuales debieran ser clasificados, con el fin de utilizar las medidas de seguridad y acondicionar el laboratorio acorde al nivel de contención y seguridad exigidas.

Para esto, se estableció una clasificación internacional que utiliza números romanos con el fin de identificar el grupo de riesgo al que pertenece un microorganismo específico.

Esta clasificación se realizó respecto del nivel relativo de patogenicidad para humanos adultos y saludables (Tabla 1):

Tabla 1. Clasificación de los microorganismos por grupos de riesgos.

Extraído de las guías del NIH [4].

Grupo de Riesgo (GR)	Clasificación de los microorganismos por grupos de riesgo	Ejemplo
GR I	Agentes que no están asociados a ninguna enfermedad.	<i>E.coli K12</i> <i>Bacillus subtilis</i>
GR II	Agentes asociados a alguna enfermedad que raramente es seria y para la cual existen intervenciones preventivas y terapéuticas disponibles.	<i>E. coli</i> enteropatógena Virus Hepatitis
GR III	Agentes asociados a alguna enfermedad seria o letal para la cual podrían existir intervenciones preventivas y terapéuticas.	Hantavirus Andes VIH <i>M. tuberculosis</i>
GR IV	Agentes asociados a alguna enfermedad seria o letal para la cual intervenciones preventivas y terapéuticas no están disponibles.	Ebolavirus Zaire Virus Variola (viruela)

Según cada país, la clasificación del grupo de riesgo de un determinado microorganismo o virus, puede variar. Esta variación puede existir, por ejemplo, cuando en algunos países no se permite el uso de determinadas vacunas (ej. vacuna contra *Tick borne encephalitis virus*) y/o cuando un patógenos se encuentra endémico o ausente en un país. Cuando exista duda sobre la norma de Bioseguridad aplicable en un determinado caso, se recomienda recabar información y hacer una evaluación de riesgo microbiológico, previa a la autorización para realizar dichos experimentos.

Los vegetales, animales, muestras biológicas humanas, muestras biológicas animales o líneas celulares se clasifican como “Muestras de Información Limitada”.

Para conocer los datos de seguridad y niveles de riesgo de los agentes infecciosos, puede consultarse sitios Web especialmente dedicados a ello [5, 6]. Un ejemplo de ficha de seguridad y nivel de riesgo se muestra en el Anexo 4.

5.2. Laboratorios de bioseguridad

A nivel nacional e internacional, los laboratorios que manipulan material biológico se clasifican en cuatro **Niveles de Bioseguridad**; niveles 1 a 4; de los cuales los laboratorios de nivel 1 y 2 corresponden a laboratorios básicos, mientras que los niveles 3 y 4 incluyen características en su diseño e infraestructura de contención alta y máxima, respectivamente.

En general, las puertas de ingreso a los laboratorios debieran mantenerse cerradas y sólo podrá entrar en las zonas de trabajo del laboratorio, el personal autorizado (indicar con señalética como Acceso restringido).

En las puertas de acceso de los laboratorios donde se manipulen microorganismos del grupo de riesgo II o superior, debiera colocarse el símbolo y signo internacional de peligro biológico (Figura 1).

El acceso a los locales que albergan animales (biotérios o animalarios), debiera ser autorizado, especialmente, por el personal responsable del bioterio o animalario. Finalmente, no debiera permitirse el acceso al laboratorio de animales que no sean objeto del trabajo del laboratorio (Adaptado del “Manual de bioseguridad en el laboratorio”, OMS, 2005) [7].

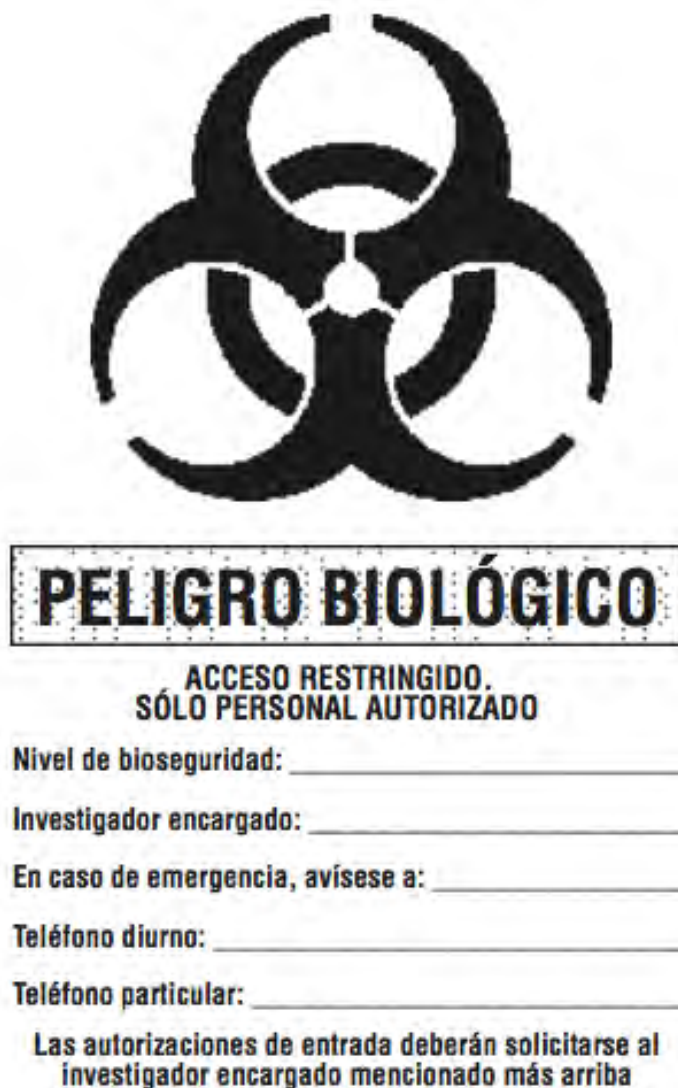


Figura 1. Señal de advertencia de peligro biológico para las puertas del laboratorio.

(Extraído del “Manual de bioseguridad en el laboratorio”, OMS, 2005) [7].

Los **Niveles de Biocontención** describen la infraestructura, equipos, prácticas, protección personal, custodia y manejo de los desechos necesarios para manipular agentes biológicos, de manera de reducir la exposición de trabajadores, personas, animales y el ambiente externo a agentes peligrosos con que debiera contar un laboratorio, como también la custodia de agentes biológicos y el manejo de desechos.

El nivel de biocontención (BSL) requerido es asignado según el grupo de riesgo del material biológico o microorganismos a tratar. La clasificación asignada al

laboratorio debiera ser consignada en los procedimientos escritos. Estos niveles no son grupos de riesgos, pero se correlacionan entre sí. Por tanto, el nivel de biocontención debiera determinarse tras evaluar riesgos.

En un **laboratorio BSL1**, se trabaja con agentes clasificados en el Grupo de riesgo I por presentar un peligro mínimo para el personal del laboratorio y para el ambiente.

En **laboratorios BSL2** se trabaja en general con agentes clasificados en el Grupo de riesgo II, muestras humanas y/o animales de información limitada, en las cuales se desconoce si portan algún agente de riesgo del grupo 2.

Los **laboratorios BSL3** de contención permiten la manipulación de microorganismos del grupo de riesgo 3, como también grandes volúmenes o concentraciones de microorganismos del grupo de riesgo 2, por la existencia de un mayor riesgo de generación de aerosoles. Este nivel de bioseguridad exige una infraestructura y diseño diferente a los laboratorios básicos y equipamiento para proteger al trabajador y el ambiente. Además, opera bajo estrictos protocolos de protección personal y de procedimientos para evitar la exposición al patógeno. Estos laboratorios además mantienen una presión de aire negativa, lo cual ayuda a impedir que los agentes nocivos escapen al ambiente.

Los **laboratorios BSL4** son de contención máxima, donde se pueden manipular microorganismos del grupo de riesgo 4 y donde se proporciona la mayor protección al trabajador. Estos laboratorios debieran estar sometidos a control por autoridades sanitarias de Chile, tales como el Instituto de Salud Pública.

Al igual que los laboratorios, los bioterios (también conocidos como animalarios) pueden clasificarse en cuatro niveles de bioseguridad, de acuerdo a una evaluación del riesgo y al grupo de riesgo al que pertenecen los microorganismos investigados. Esto se describe en el capítulo 5.1.

Para determinar el nivel de contención y seguridad, así como prácticas e infraestructura necesaria que se requiere para trabajar con un determinado grupo de riesgo, existen criterios de clasificación según el tipo de agente biológico a tratar, según detalles de Tabla 1.

Tabla 2. Clasificación del nivel de biocontención según agente biológico.
(Adaptada de *Módulo de Autoinstrucción Seguridad en Laboratorios-Comité Institucional de Seguridad en Investigación, PUC*).

Tipo de agente	Nivel de biocontención (BSL)
<i>Microorganismos</i> (Ej. bacteria, virus, hongos etc.)	En su mayoría correlativo a su grupo de riesgo. En algunos casos se eleva un nivel de BSL, ejemplo al trabajar con grandes volúmenes.
Muestras humanas (Ej. sangre)	BSL2 Se puede considerar BSL1 sólo en algunos casos en que se trabaja con orina y/o saliva o bien si se ha analizado y se descartan patógenos.
<i>Líneas celulares comerciales</i>	BSL1.
<i>Células de cultivo primario</i>	Según nivel de biocontención del origen del cultivo (muestras animales, muestras humanas)
<i>Muestras de animales certificados libres de patógenos, anfibios y/o peces</i>	BSL1.
<i>Muestras de animales sin certificación de patógenos</i>	Procedimientos BSL2 (Ej. por riesgo de mordedura de rata), alojamiento en bioterio ABSL-1.
<i>Animales infectados</i>	Determinado por el grupo de riesgo del microorganismo que infecta considerando además las vías de transmisión.
<i>Muestras microbiológicas ambientales</i>	BSL1.
Plantas de experimentación	BL1-P, BL2-P, BL3-P ó BL4-P, dependiendo del experimento. Ver capítulo 5.4.9.
<i>ADN recombinante u organismos genéticamente modificados de biocontención.</i>	Realizar evaluación de riesgos según capítulo 2.1 para determinar el nivel de biocontención.
<i>Biotoxinas</i>	BSL2 y según características propias de las biotoxinas.
<i>Priones</i>	BSL2 o BSL3, según el tipo de prión o de los procedimientos experimentales involucrados.

5.2.1. Almacenamiento y custodia

Por lo general, todo material biológico que aún no se encuentra inactivado se debiera almacenar en **recipientes herméticamente cerrados**.

Para la preservación de las muestras biológicas, la mayoría del material se almacena a bajas temperaturas, ya que sea a 4°C en refrigeradores, -20 o -80°C en freezers, o, incluso, en nitrógeno líquido en laboratorios de biocontención, según el nivel de riesgo de cada muestra.

En el laboratorio, debieran marcarse todos aquellos lugares, contenedores o equipos que están en contacto o por los que circula material potencialmente infeccioso (grupo de riesgo II o superior). Para este efecto, se utilizan etiquetas con el símbolo internacional de peligro biológico como se muestra en la Figura 2 [3].



Figura 2. Símbolo Internacional de Riesgo Biológico.

(Extraído del Manual de Bioseguridad del ISP, página 36) [3].

En cuanto al **transporte fuera del laboratorio** de contención de las muestras del grupo de riesgo 2 y superior, éste debiera realizarse en sistema de triple embalaje y que contenga la señalética debida, ejemplificado en Figura 3. Las muestras solo debieran ser removidas del triple embalaje en laboratorios que cumplan con el nivel de bioseguridad necesaria para su manejo. Para el correcto etiquetado, consultar la Norma Chilena 2190 sobre Rotulación de Sustancias Peligrosas [8]. Más información se puede encontrar en el Manual de Regulaciones de Sustancias Infecciosas de la OMS [9].

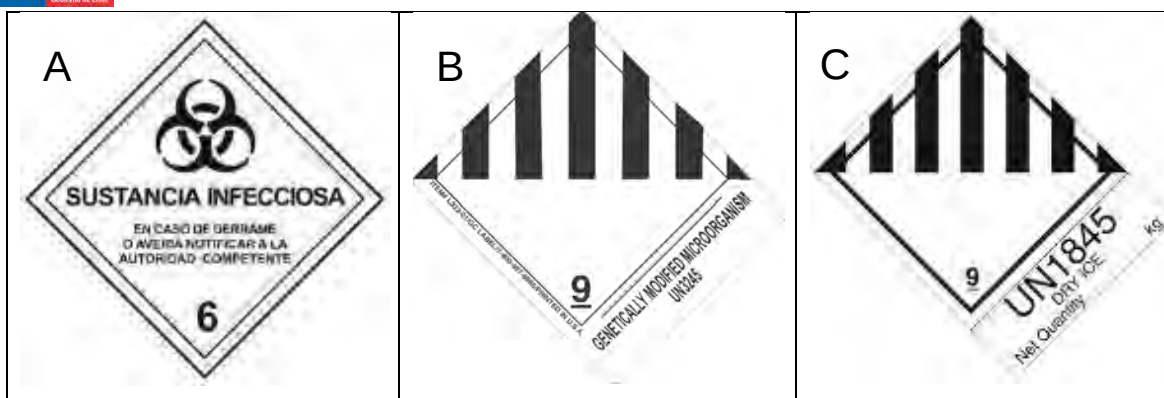


Figura 3. Ejemplos de etiquetas de peligro.

Etiquetas para sustancias biológicas de categoría A (UN 3245), tales como sustancias infecciosas (A) o microorganismos genéticamente modificados (B). Etiqueta para sustancias empaquetadas en hielo seco (UN 1845) (C).

El ingreso de material biológico al territorio nacional de Chile es regulado por la Resolución 2229 Exenta del Ministerio de Agricultura; Servicio Agrícola y Ganadero que establece normas de ingreso de material biológico [10].

Agentes biológicos con potencial de bioterrorismo deben ser debidamente registrados en la Dirección General de Movilización General, según indicaciones de la Ley N° 17.798 sobre Control de Armas, Explosivos y Elementos Similares (Chile) [11].

5.2.2. Infraestructura y equipos de los laboratorios de bioseguridad

Según las recomendaciones del “Manual de Bioseguridad en el Laboratorio”, OMS, 2005) [7], la infraestructura y equipos de laboratorios de bioseguridad deben cumplir diferentes requerimientos, según su respectivo nivel.

Infraestructura y equipos BSL1

Diseño de la infraestructura de BSL1

- Las paredes, techos, suelos lisos deben ser fáciles de limpiar. Los suelos además deben ser antideslizantes.
- Las superficies de trabajo deben ser impermeable y resistente a desinfectantes, ácidos, álcalis, solventes orgánicos.
- Deben existir espacios de almacenamiento de material para evitar su acumulación en superficies de trabajo.

- Deben existir espacios para comer y beber, que se encuentren fuera de la zona de trabajo del laboratorio.
- Debe haber un suministro de agua.
- Debe haber un sistema de suministro de aire; alternatively, las ventanas deben poder abrirse.
- Debe haber un sistema de suministro de electricidad seguro.
- Debe haber un suministro fiable y seguro de gas, en caso de existir.
- Un sistema de detección de humo es altamente recomendado.
- Debe haber presencia de extintores con debida mantención.

Equipos BSL1:

- Dispositivos de pipeteo para evitar pipetear con la boca.
- Autoclave u otros medios apropiados para esterilizar material contaminado.

Infraestructura y equipos BSL2

Diseño de la infraestructura de BSL2

- El acceso es restringido a personas autorizadas durante el trabajo en áreas técnicas con agentes infecciosos.
- La puerta de acceso del laboratorio debe permanecer cerrada y tener el símbolo de riesgo biológico, además debe indicarse el nivel de bioseguridad, nombre y teléfono del responsable.

Equipos BSL2:

- Centrífugas preferiblemente con capachos de bioseguridad.
- Gabinete de bioseguridad adecuado según agente de riesgo. Su uso debe prevenir la exposición a aerosoles. Información acerca del tipo de gabinete a usar y su mantención se encuentran en el Anexo 3 y en el manual *"Cabinas de seguridad biológica: uso, desinfección y mantenimiento. Organización Panamericana de la Salud, 2002"* [12].

Los lugares, contenedores o equipos que están en contacto o por los que circula material potencialmente del grupo de riesgo II o superior, deben señalizarse con el símbolo internacional de peligro biológico (Figuras 1 y 2).

Infraestructura y equipos BSL3

Diseño de la infraestructura de BSL3

- El acceso debe ser restringido con símbolo de riesgo biológico. Las superficies de paredes, suelos y techos deben ser impermeables y deben evitarse rincones difíciles de limpiar.
- Debe haber doubles puertas de acceso al laboratorio con cierre automático y disponer de un mecanismo de interbloqueo, de modo que sólo una de ellas esté abierta al mismo tiempo.
- Debe haber un sistema de ventilación que establezca un flujo direccional hacia el laboratorio (presión negativa), sin recirculación, que incluya un sistema de vigilancia visual que permita al operador verificar en todo momento la presión negativa en la sala.
- La salida del aire debe ser idealmente filtrada por filtros absolutos HEPA, o alternativamente, y dependiendo del microorganismo con que se trabaja, debe eliminarse directamente fuera del edificio, lejos de personas y tomas de aire de edificios.
- La sala del laboratorio debe ser hermética para permitir su descontaminación.
- Los sistemas de conducción de aire deben ser factibles de descontaminar mediante fumigación con gases (ver capítulo 5.2.6.3).
- Las ventanas deben estar cerradas herméticamente, con cristales resistentes a rotura.

Mayor información para el diseño de un BSL3 se pueden encontrar en “*Design Requirements Manual, The formula for building state of the art biomedical research facilities*” del NIH [13] y sobre sistemas de control de aire en el Anexo 5 del “*Manual de Bioseguridad en el laboratorio de la OMS*” [7].

Equipos BSL3:

- Debe haber una autoclave dentro del laboratorio de contención, para garantizar la inactivación de los desechos antes que estos salgan del recinto.

- Gabinete de Bioseguridad clase I o II (Ver Anexo 3 y Cabinas de seguridad biológica: uso, desinfección y mantenimiento. Organización Panamericana de la Salud, 2002) [12].
- Centrífugas con capachos de bioseguridad son obligatorios para sellar el interior de capacho del exterior. Esto es de particular importancia cuando ocurren fallas de los tubos de centrifugación (ver capítulo 5.2.7. Incidentes con material biológico).

Los lugares, contenedores o equipos, que están en contacto o por los que circula material potencialmente del grupo de riesgo II o superior) deben señalizarse con el símbolo internacional de peligro biológico (Figuras 1 y 2).

Infraestructura y equipos BSL4

Diseño de la infraestructura de BSL4 y equipos

- Estos laboratorios deben ubicarse en edificios independientes o en una zona claramente delimitada, al interior de un edificio protegido.
- Estos laboratorios se diferencian en su diseño, en la contención primaria que puede ser de dos tipos: uno basado en gabinete de bioseguridad III, y otro, basado en trabajar con trajes especiales basado en presión positiva.

Dado lo complejo que es su diseño, en la tabla 3 se resumen algunas características principales. Informaciones para la construcción e implementación de un laboratorio BSL4 deben ser directamente consultados con el manual de bioseguridad de la OMS [7].

Los lugares, contenedores o equipos que están en contacto o por los que circula material potencialmente del grupo de riesgo II o superior) deben señalizarse con el símbolo internacional de peligro biológico (Figuras 1 y 2).

Tabla 3. Resumen de requisitos por nivel de bioseguridad*

	Nivel de bioseguridad			
	1	2	3	4
Aislamiento del laboratorio ^a	No	No	Si	Si
Sala que se puede sellar para ser descontaminada	No	No	Si	Si
Ventilación:				
• Presión negativa	No	Conveniente	Si	Si
• Sistema de ventilación controlada	No	Conveniente	Si	Si
• Salida de aire con HEPA	No	No	Si/No ^b	Si
Entrada de doble puerta	No	No	Si	Si
Cámara de entrada de cierre hermético con ducha	No	No	No	Si
Antesala	No	No	No	-
Antesala con ducha	No	No	Si/No ^c	No
Tratamiento de efluentes	No	No	Si/No ^c	Si
Autoclave:				
• En el campus/lugar	No	Conveniente	Si	Si
• En la sala de trabajo	No	No	Conveniente	Si
• Doble puerta	No	No	Conveniente	Si
Gabinete de bioseguridad	No	Conveniente		Si
Vigilancia de la seguridad del personal ^d	No	No		Si

* Tabla adaptada del Manual de Bioseguridad en el laboratorio, OMS 2005 [7].

^a Respecto el tráfico de personas en general

^b Según localización de la salida de aire

^c Según cuales sean los agentes empleados en el laboratorio

^d Por ejemplo ventana, sistema de cámaras, comunicación en dos sentidos

HEPA: Filtro de aire para remover partículas con alta eficiencia (High-Efficiency Particulate Air)

5.2.3. Prácticas en laboratorios de bioseguridad

Para la disminución de peligros de contaminación en el laboratorio se recomienda contar con una formación continua acerca de medidas de seguridad, la cual es responsabilidad del personal directivo de cada laboratorio. Este además puede ser apoyado por el personal del CIB de cada establecimiento. La formación del personal debiera incluir la enseñanza de métodos seguros, que permitan realizar procedimientos peligrosos que habitualmente pueden afectar a todo el personal de laboratorio y que entrañan los siguientes riesgos:

1. Riesgo de inhalación (formación de **aerosoles**): múltiples operaciones del laboratorio generan aerosoles peligrosos, tales como mezclar, agitar, pipetear, remover, apertura de recipientes, someter a ultrasonidos o centrifugar material infeccioso, entre otros.
2. Riesgo de ingestión al manipular muestras, frotis y cultivos o por tocarse con dedos/guantes contaminados.

3. Riesgo de inoculación cutánea al emplear jeringuillas y agujas (Evitar el uso de material cortopunzante) o presentar roturas/heridas en la piel.
4. Riesgo de inoculación vía los ojos por salpicaduras o por tocarse con dedos/guantes contaminados.
5. Riesgo de mordeduras y arañazos en la manipulación de animales.

Para los laboratorios de bioseguridad BSL1 a 4, aplican todas las prácticas generales mencionadas sobre “Seguridad en el laboratorio” en el capítulo 3.2.

Además, aplican las siguientes normas según nivel de bioseguridad:

Prácticas BSL1

- El personal debe ser **supervisado por un profesional de ciencias naturales**.
- Las superficies de trabajo se descontaminan después de todo derrame de material y al final de cada jornada de trabajo.
- Todos los materiales, muestras y cultivos se descontaminan antes de eliminarlos o de su limpieza.
- Todos los procedimientos se realizan de manera de reducir la formación de aerosoles como medida de protección personal.
- Lavado de manos después de la manipulación de materiales o animales infecciosos y al retirarse de la zona de trabajo del laboratorio
- Debe realizarse aseo general del laboratorio a una hora fuera del horario habitual de trabajo experimental sin personal presente.
- El laboratorio debe mantenerse libre de artrópodos y roedores.

Prácticas BSL2

Además de aplicar las prácticas indicadas para BSL1, se adicionan las siguientes:

- Todo el personal debe ser **capacitado por el director o encargado del laboratorio** para minimizar riesgos de exposición.
- El material infeccioso debe ser manipulado de preferencia en gabinetes de Bioseguridad para evitar la diseminación de aerosoles. Alternativamente, y

según la evaluación de riesgo, se debe utilizar elementos de protección personal (ej. ocular y respiratoria).

- Se debe evitar la formación de aerosoles con especial cuidado al destapar y tapar tubos y aspirar líquidos.
- El centrifugado de material infeccioso debe realizarse en centrífugas con capachos de bioseguridad.
- Las superficies deben ser descontaminadas con desinfectantes efectivos.
- El uso de material cortopunzante debe reducirse a casos para los cuales no existe otra alternativa y ser depositados en recipientes resistentes a la perforación.
- Se recomienda que en la puerta de acceso estén indicados los elementos de protección personal requeridos para el trabajo al interior.
- Se recomienda la señalización y etiquetado de áreas y equipos (área limpia y área sucia).
- El transporte de las muestras dentro del laboratorio debe realizarse de forma tal que, en caso de caída, no se produzcan salpicaduras ni aerosoles (en gradillas y recipientes cerradas, etc.).
- Debe haber vigilancia médica del personal, previo al empleo y durante su desempeño laboral, permitiendo así la exclusión de personas más susceptibles.
- Proporcionar inmunización y facilitar la detección temprana y medidas de protección apropiadas (ej. vacuna contra el virus de la hepatitis B en caso de manipular muestras humanas).
- Las mujeres embarazadas y las personas con algún grado de inmunosupresión deben estar informadas de los riesgos asociados al trabajo. Al comunicar su estado al Director del laboratorio se estudiarán las tareas que por su seguridad no deben llevar a cabo en tanto se mantenga esa condición.

Prácticas BSL3

En instalaciones donde se trabaja con microorganismos del grupo de riesgo 3 o 4, (**BSL3** o **BSL4**), debe haber un **plan de contingencia** escrito para poder enfrentar un eventual incidente o accidente, el cual identifique los microorganismos de alto riesgo, las zonas de riesgo, las personas en riesgo y los responsables de bioseguridad, los servicios sanitarios locales, bomberos y policía. Además, debe establecer las medidas aplicables en caso de exposición accidental y de descontaminación como también el tratamiento médico de emergencia. Debe haber además material de emergencia como ropa protectora, desinfectantes en la sala fuera del laboratorio de biocontención que permite su ingreso en casos requeridos (ej. prendas de protección personal, desinfectantes, kit de descontaminación según microorganismos).

A las prácticas de BSL3, se adicionan, además:

- Todos los operadores deben ser **capacitados por un responsable determinado**, con las indicaciones específicas del microorganismo a manipular.
- La manipulación abierta del material potencialmente infeccioso debe realizarse en un gabinete de bioseguridad. Antes de retirar material del gabinete, que es potencialmente contaminado, este debe ser desinfectado, incluyendo el par exterior de guantes.
- La ropa del laboratorio no se puede usar fuera de éste y debe ser descontaminada antes de enviarla a lavandería.

La vigilancia médica del personal es obligatoria. Esta debe incluir un chequeo médico general antes del inicio del trabajo en el laboratorio de contención, o previo a iniciar el trabajo con microorganismos nuevos, con emisión de un informe favorable. Además, son obligatorias las vacunas disponibles contra los microorganismos con los cuales se pretende trabajar, si éstas existen.

Prácticas BSL4

Las prácticas de BSL3 se aplican también en laboratorios BSL4, incluyendo las siguientes medidas adicionales:

- Todo el trabajo en BSL4 debe ser realizado por dos personas.
- Para entrar y salir del laboratorio, es obligatorio el cambio completo de ropa y calzado.
- Todo el personal debe recibir capacitación en procedimientos de evacuación de emergencia para casos en los que un integrante del personal sufra lesiones o caiga enfermo, por ejemplo.
- Debe existir un método o sistema de comunicación entre el personal que trabaja dentro del laboratorio BSL4 y el personal de apoyo que se encuentra fuera del mismo, para la comunicación ordinaria y de emergencia.
- La gran complejidad del trabajo que se lleva a cabo en los laboratorios BSL4 requiere la elaboración de un Manual de trabajo detallado que se ensaye en los ejercicios de capacitación.
- Se requiere de un programa o plan de emergencia que incluya la colaboración activa de las autoridades sanitarias nacionales y locales, y la participación de otros servicios de emergencia (por ejemplo, bomberos, policía y servicios hospitalarios).

5.2.4. Equipos de protección personal (EPP) en laboratorios de bioseguridad

Los Equipos de Protección Personal (EPP) son dispositivos, accesorios y vestimentas de diversos diseños para protegerse de la exposición a agentes biológicos. Debiera tenerse en cuenta que las principales vías de infección son la piel, los ojos, la vía respiratoria y por ingestión (ver capítulo anterior; 5.2.3). Aun cuando se utilice un equipo seguro tal como un gabinete de bioseguridad, es inevitable la contaminación del material que se encuentra inmediatamente en contacto con las muestras, como por ejemplo los guantes. Esta contaminación ocurre a través de múltiples operaciones de laboratorio tales como mezclar, agitar, remover, someter a ultrasonidos o centrifugar material infeccioso, que generan **aerosoles** o **salpicaduras** peligrosas.

En este contexto, la vestimenta y otros elementos de protección personal pueden actuar como barrera para reducir el riesgo de exposición a aerosoles, salpicaduras e inoculación accidental. Las prendas de vestir y otros elementos de protección personal que se seleccionen, dependerán de la naturaleza del trabajo que se va a realizar. Las prendas protectoras **no debieran** usarse fuera de las zonas de riesgo de los laboratorios y tendrían que ser removidas antes de abandonar el laboratorio (o la antesala en caso de BSL3 y nivel superior). En la tabla 4 se indican algunos elementos de protección personal.

En Chile, la calidad de elementos de protección personal es controlada por el Instituto de Salud Pública, según Decreto Supremo N°18: “*Certificación de calidad de elementos de protección personal contra riesgos ocupacionales*” [14].

Tabla 4. Elementos de protección personal según laboratorio de bioseguridad.

BSL1	BSL2	BSL3	BSL4
Delantal o bata siempre para trabajo en el laboratorio Guantes cuando corresponde evitar contacto directo o accidental con material biológico o químico Gafas de seguridad Mascarillas Prendas protectoras cuando sea necesario	Delantal o bata en todo momento Guantes Para todos los procedimientos que involucra material biológico Gafas de seguridad, viseras o similar cuando sea necesario proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, e impactos	Ropa protectora y protección de calzado en todo momento Doble guantes durante toda la permanencia en BSL3 Un par de guantes en antesala Protección ocular y/o protección respiratoria (mascarillas o respiradores de presión positiva) según microorganismo	Ropa y calzado protector, guantes y protección respiratoria en todo momento y depende del diseño del laboratorio*

*Programa de Bioseguridad, Departamento de Enfermedades Transmisibles (Vigilancia y respuesta), Organización Mundial de la Salud, 20 Avenue Appia, 1211 Ginebra 27, Suiza. (<http://www.who.int/csr/>)

5.2.5. Desechos biológicos

Son aquellos residuos orgánicos sospechosos de contener agentes patógenos en concentración o cantidad suficiente para causar enfermedad a un huésped susceptible. Esta categoría comprende muestras biológicas de origen humano o animal en sus contenedores, cultivos bacterianos contenidos en tubos o placas, cepas almacenadas y

todo material que estuvo en contacto con muestras biológicas y se dividen como se indica a continuación:

Cultivos y muestras almacenadas. Son residuos de la producción de material biológico, vacunas de virus vivo, placas de cultivo y mecanismos para transferir, inocular o mezclar cultivos; residuos de cultivos; muestras almacenadas de agentes infecciosos y productos biológicos asociados (incluyendo cultivos de laboratorios médicos y patológicos) y cultivos y cepas de agentes infecciosos de laboratorios.

Residuos patológicos. Son restos biológicos, incluyendo tejidos, órganos, partes del cuerpo que hayan sido removidos de seres o restos humanos, incluidos aquellos fluidos corporales que presenten riesgo sanitario.

Sangre y productos derivados. Son residuos que incluyen el plasma, el suero y demás componentes sanguíneos y elementos tales como gasas y algodones saturados con éstos. Se excluyen de esta categoría la sangre, productos derivados y materiales provenientes de bancos de sangre que luego de ser analizados se haya demostrado la ausencia de riesgos para la salud. Además, se excluye el material contaminado que haya sido sometido a desinfección.

Cortopunzantes. Son residuos resultantes del diagnóstico, tratamiento, investigación o producción, capaces de provocar cortes o punciones. Se incluye en esta categoría residuos tales como agujas, pipetas Pasteur, bisturís, placas de cultivos y demás cristalería, entre otros.

Residuos de animales. Son cadáveres o partes de animales, así como sus camas, que estuvieron expuestos a agentes infecciosos durante un proceso de investigación, producción de material biológico o en la evaluación de fármacos.

Residuos sólidos asimilables a domiciliarios. Son aquellos residuos que, por sus características físicas, químicas y microbiológicas, pueden ser entregados a la recolección municipal, y pueden ser dispuestos en un relleno sanitario, ya que no representan un riesgo adicional para la salud. Ver sección 6.3.2.1.

5.2.6. Manejo de los desechos biológicos

Es responsabilidad de todo el personal del laboratorio separar, manipular y eliminar adecuadamente todos los desechos desde que se generan hasta su disposición final; de esta manera, se previene que el personal auxiliar, que normalmente transporta estos desechos, esté sujeto a riesgos no controlados. El personal debiera usar los EPP provistos en todo momento que se manipulen residuos especiales.

Según lo estipulado en el Decreto Supremo N°6 de 2009 “Reglamento sobre Manejo de Residuos de Establecimientos de Atención de la Salud (REAS)” [15] del Ministerio de Salud, el manejo y disposición de los residuos del laboratorio debe comprender diferentes etapas que se describen a continuación.

5.2.6.1. Segregación

Consiste en la clasificación de los residuos mencionados previamente (capítulo 5.2.5) para su adecuado manejo dentro del laboratorio y en las zonas de acopio, así como su disposición final.

5.2.6.2. Almacenamiento o conservación

Una vez clasificado el residuo, debe determinarse el contenedor en el que será eliminado de acuerdo a las siguientes especificaciones:

En el caso de los residuos especiales de origen biológico, se debe disponer de bolsas especiales para residuos o autoclaves e insertas en contenedores amarillos de tapa ajustada que permitan un cierre hermético, con bordes romos y superficie lisa, que tengan asas que faciliten su manejo y sean de material resistente a la manipulación y a los residuos contenidos.

Las bolsas especiales para residuos (amarillas) son opacas y gruesas (120 micrones), de material resistente y con el símbolo internacional de riesgo biológico (Figura 2).

Los contenedores fabricados de plástico lavable y resistente a los golpes e identificados con el símbolo de riesgo biológico son los de uso más frecuente.

En el caso de los desechos de material cortopunzante, se debe disponer de contenedores rígidos, resistentes al corte y la punción. Para estos efectos se puede utilizar cajas de plástico rígido o cartón resistente e impermeable para descarte de cortopunzantes. Una vez llena su capacidad, el contenedor debe cerrarse herméticamente y ser llevado a autoclave o centro de acopio según sea el caso.

Para el almacenamiento de material de vidrio o cortante, que no esté potencialmente infectado con material biológico, puede disponerse de contenedores rígidos resistentes al corte y la punción. Una vez llena su capacidad, deben cerrarse herméticamente y ser dispuestos como residuo asimilable al domiciliario verificando la integridad del contenedor para resguardar la seguridad del personal que manipula este tipo de desechos. Si se cuenta con autoclave en el área y se descontaminarán los residuos en el laboratorio previo a ser eliminados.

5.2.6.3. Descontaminación de los desechos biológicos

Antes de la eliminar desechos biológicos de origen clínico, ambiental o de laboratorio, estos deben ser inactivados o descontaminados por métodos de autoclavado, desinfección química o incineración. La eliminación final de desechos biológicos está normado por el Decreto Supremo N°148 de 2003 del Ministerio de Salud, que aprueba el Reglamento Sanitario sobre Manejo de Residuos Peligrosos [16].

“La descontaminación es uno de los principios fundamentales de la Bioseguridad”. Se refiere a la esterilización o destrucción completa de todos los microorganismos incluyendo las esporas bacterianas

Es responsabilidad del Director del laboratorio asegurar que todos los integrantes del personal del laboratorio sean capacitados sobre el tema y, a su vez, es

responsabilidad de los integrantes del personal de utilizar de manera eficaz los procedimientos y productos de descontaminación cualquiera que sea su uso.

Todas las materias deben ser descontaminadas antes de ser eliminadas, o limpiadas antes de una utilización futura. La elección del método es definida por las materias mismas, las cuales pueden ser cultivos de laboratorio, cepas de referencias, especímenes clínicos, equipos de laboratorios, objetos cortantes, ropas protectoras o cualquier objeto que estuvo en contacto con las materias infecciosas. La superficie y los mesones deben ser descontaminados después de cada derrame de materias eventualmente infecciosas y al final de cada jornada de trabajo. Las zonas de laboratorios y los grandes equipos pueden también necesitar ser descontaminados (antes de su mantención o su traslado). Deben prepararse protocolos escritos y precisos, los que deben ser respetados en cada caso. Se sugiere la verificación del proceso de descontaminación con indicadores, por ejemplo usando tiras o ampollas con esporas de bacterias [17, 18].

A continuación (Tabla 5) se menciona las metodologías adecuadas para laboratorios BSL1-BSL4.

Tabla 5. Manejo de desechos biológicos según nivel de bioseguridad*

Procedimientos	BSL1	BSL2	BSL3	BSL4
Todos los materiales que han estado en contacto con material biológico se descontaminan, mediante procesos de autoclavar, incinerar o inactivación química.	Si	Si	Si	Si
Todos los desechos deben colocarse en recipiente con tapa.	No	Si	Si	Si
Los desechos de material biológico contaminado deben ser inactivados previo a su eliminación.	No	Si	Si	Si
En el caso que la desinfección se realiza en un lugar externo, el material debe ser transportado desde el laboratorio en recipiente herméticamente cerrado.	No	Si	No	No
Los desechos, incluyendo la ropa de protección, se desinfectan antes de permitir su salida del laboratorio de contención.	No	No	Si	Si
Según los microorganismos a tratar, todos los efluentes deben ser inactivados, ejemplo químicamente.	No	No	Si/No	Si
El aire evacuado del laboratorio debe atravesar dos filtros HEPA antes de salir al exterior del edificio.	No	No	Si/No	Si
Los filtros del sistema de aire deben ser descontaminados antes de retirarlos. Alternativamente debe ser colocado en un recipiente primario cerrado y hermético para su posterior descontaminación	No	No	Si/No	Si

*Tabla según indicaciones del Manual de Bioseguridad en el laboratorio, OMS 2005 [7].

Descontaminación por autoclave.

Los desechos infecciosos de laboratorio (Placas de Petri, pipetas, tubos de cultivos, material de vidrio, etc.) pueden ser eficazmente descontaminados utilizando una autoclave con vapor directo o con una autoclave con extracción de aire. Este último sistema permite resolver los problemas de bolsillos de aire que se forman en las autoclaves de vapor directo debido al movimiento del aire por gravedad. La eficiencia de descontaminación depende de varios factores de carga, que influyen la temperatura efectiva a la cual el material está sometido y el tiempo de contacto. El embalaje es también un factor determinante a la hora de favorecer la libre circulación del vapor. La sobrecarga y el apilamiento en la autoclave pueden llevar al fracaso del proceso de descontaminación. Lo ideal es agregar un indicador biológico como, por ejemplo, una cantidad conocida de esporas.

Los CIBs deberían velar para que cada autoclave de su institución sea manipulada por personas calificadas, es decir, que posean un certificado de manejo otorgado por la Asociación Chilena de Seguridad (ACHS) o el Instituto de Seguridad del Trabajo (IST) (reconocido por el ISP) (Decreto Supremo N°10 del Ministerio de Salud, “*Aprueba reglamento de calderas, autoclaves y equipos que utilizan vapor de agua*”) [19] .

Desinfección química.

Los desinfectantes químicos son útiles para descontaminar las superficies y los aparatos que no pueden ser esterilizados en autoclave. También son útiles para limpiar las salpicaduras de materias infecciosas, las salas y las unidades de hospedaje de animales.

La selección del desinfectante depende de la resistencia de los microorganismos manipulados. Los microorganismos más sensibles son las bacterias vegetativas, los hongos y los virus envueltos con membrana. Las micobacterias y los virus encapsulados son menos sensibles; las esporas bacterianas y los quistes de protozoarios son generalmente los más resistentes. Para la selección del desinfectante químico para cada patógeno en particular, recomendamos la páginas de seguridad y evaluación de riesgo

de patógenos de la agencia de Salud Pública de Canadá (Pathogen Safety Data Sheets and Risk Assessment, Public Health Agency of Canada) [5].

Los peligros para la salud que representan los desinfectantes químicos, así como, la facilidad de manejo, estabilidad y compatibilidad con los materiales a desinfectar son factores importantes que debieran considerarse para elegir el desinfectante adecuado. Si bien existen numerosos productos en el mercado, los compuestos activos pertenecen a un número limitado de familias químicas. Para elegir un desinfectante cabe entender la posibilidad y límites de cada una de estas familias: hipocloritos, compuestos de amonio cuaternario, compuestos fenólicos, yodados, alcohol, etc.

Puede ser conveniente que los laboratorios evalúen por sí mismos la eficiencia de tal o cual desinfectante. El método principal para dicha evaluación consiste en incubar el microorganismo en cuestión a diferentes tiempos y con diferentes diluciones del desinfectante para luego titular su infectividad y verificar si el desinfectante logró neutralizarlo usando métodos de titulación estandarizada para cada caso.

Incineración.

La incineración ha sido desde siempre el método favorito de eliminación de carcasas de animales y de desechos patológicos. En la mayoría de los casos, los desechos que deben ser incinerados tienen que ser embalados adecuadamente en bolsas plásticas herméticas y marcadas especialmente, de acuerdo a la normativa del Decreto Supremo N°6 de 2009 REAS [15] para que sean retirados de los laboratorios por las empresas certificadas que se encuentran operando en nuestro país. La responsabilidad de los laboratorios recae entonces, por un lado, en el almacenamiento de las carcasas de animales dentro de un congelador de uso exclusivo a -20° C, y por otro lado del resto del material en lugares seguros señalados para este fin, hasta que el material biológico sea retirado por la empresa contratada.

Para aquellos centros o laboratorios que disponen de un incinerador, cabe resaltar que la eficiencia de la incineración depende de la calidad conceptual de los aparatos, del tiempo y de la temperatura de incineración, de las turbulencias y del aire necesario para una oxidación completa. Es importante constatar que las emisiones

producidas por la incineración tienen que adecuarse a las normas ambientales vigentes en cuanto a emisión de partículas y contaminantes químicos. La ceniza residual del incinerador puede ser desechada como residuos comunes.

Fumigación con gases.

Los espacios de laboratorios, filtros de aire y equipos pueden descontaminarse mediante fumigación con gases. Éstos regularmente son formaldehído gaseoso o vapores de peróxido de hidrógeno. Este último gas tiene la gran ventaja que es más inocuo resultando como producto de reacción solo en agua, sin embargo, su uso requiere de equipo especializado para generar el vapor. Por su parte, el formaldehído gaseoso es un gas peligroso de olor acre que puede irritar los ojos y las mucosas. Por ello, su manipulación requiere una campana extractora o mascarilla con filtros químicos. Se obtiene al calentar paraformaldehído y formol [20], que produce una reacción química con amidas primarias, de esta forma fija sustancias como proteínas, ADN y ARN. La reacción depende del tiempo de contacto, humedad (>70%), temperatura (>21 °C), distribución del espacio y materiales absorbentes. Por tanto, antes de fumigar, todos los elementos no necesarios en las superficies del laboratorio debieran ser removidos. También materiales que contienen clorina debieran ser eliminados, dado la posibilidad que formaldehído pudiera reaccionar con estos materiales, formando el carcinógeno bis-clorometil éter. En el caso de laboratorios de BSL-3 y BSL-4, la descontaminación debería ser verificada mediante tiras de esporas, las cuales se deberían colocar en lugares estratégicos, para validar posteriormente que el gas actuó sobre todas las superficies [21]. Para evitar la diseminación del gas a espacios colindantes, todas las aberturas (ventanas, puertas) deben sellarse con alguna cinta adhesiva antes de generar el gas. El tiempo de contacto de formaldehído gaseoso con las superficies es recomendado por 12 h; luego puede ser neutralizado con bicarbonato amoníaco gaseoso. Terminada la fumigación, el espacio debe ser ventilado y todas las superficies lavadas con agua, para remover todos los residuos de formaldehído antes de permitir la entrada de personal.

5.2.6.4. Recolección y transporte

Como se mencionó anteriormente, la eliminación de los residuos debe hacerse en el contenedor apropiado en cada caso. El volumen de residuos especiales no debiera superar los $\frac{3}{4}$ de la capacidad del contenedor. Esta precaución evita riesgos como rupturas forzadas o derrames. Los contenedores llenos de acuerdo a su capacidad, deben permanecer cerrados.

Los laboratorios que cuentan con autoclave dentro del área técnica para descontaminación de desechos, pueden autoclavar los residuos y eliminarlos como residuos sólidos asimilables a los domiciliarios.

Es necesario mantener registro de la cantidad y tipo de residuos especiales entregados a sala de acopio institucional para la disposición final.

5.2.6.5. Disposición final

Los residuos pueden ser almacenados en la sala de acopio hasta su descontaminación y disposición final. En el caso de ser almacenados por más de 72 h, deben conservarse a temperatura de 4-8°C. Esta sala debe poseer paredes, pisos y techos lisos, lavables y descontaminables, sin ángulos que dificulten la limpieza. Debe contar adicionalmente con lavamanos a la entrada. La eliminación final de los residuos, podrá hacerse por parte del establecimiento o un servicio externo especializado.

5.2.7. Incidentes con material biológico

Las causas más frecuentes de incidentes en laboratorios son fallas técnicas (filtros corrompidos, fuga de carpachos de centrífugas, etc.), falla de la protección personal (protección de los ojos, piel o vía respiratoria, etc.) y procedimientos inseguros (uso de cepa equivocada, derrames, cortes, etc.). Cuán seguro un laboratorio puede ser, depende en su gran mayoría, del personal a cargo y los usuarios.

Antes de iniciar el trabajo con agentes biológicos, la evaluación de riesgo debiera haber determinado la infraestructura y los protocolos de seguridad necesarios, incluyendo la definición de reacción en caso de incidentes y accidentes. En instalaciones donde se trabaja, además, con microorganismos del grupo de riesgo 3 o 4, (BSL3 o

BSL4), debe haber un **plan de contingencia** escrito (ver capítulo 5.2.3. “Prácticas en laboratorios de Bioseguridad”).

A continuación, algunos procedimientos de emergencia recomendados para laboratorios que manejan microorganismos (Tabla 6):

Tabla 6. Procedimientos recomendados para diferentes tipos de incidentes con material potencialmente infeccioso

<i>Incidente con material potencialmente infeccioso</i>	<i>Procedimiento</i>
Heridas cutáneas	Debe quitarse la ropa protectora según procedimientos, lavarse las manos y la parte lesionada, aplicarse un desinfectante cutáneo apropiado y buscar inmediatamente la atención médica que sea precisa. Se notificará la causa de la herida y los microorganismos implicados; se mantendrán registros médicos apropiados y completos.
Ingestión de material	Se debe quitar la ropa protectora según procedimientos y buscar de inmediato atención médica. Se debe notificar la identidad del material ingerido y las circunstancias del incidente, y se mantendrán registros médicos apropiados y completos.
Derrames en gabinete de bioseguridad	Los derrames infecciosos se deben cubrir con papel absorbente desde afuera hacia el centro del derrame. Luego se debe adicionar un desinfectante apropiado (sin generar aerosoles) y dejar actuar durante un tiempo suficiente. Posteriormente se podrá remover el papel junto con el material roto para luego tratarlos en la autoclave; añicos de vidrio deben manipularse con pinzas. Finalmente se debe limpiar la zona contaminada con un desinfectante.
Derrames fuera de gabinete de bioseguridad con emisión de aerosoles	La zona o el laboratorio afectado debe ser evacuado de inmediato . Según el patógeno las personas expuestas deben recibir atención médica de inmediato. El director del laboratorio y el encargado de bioseguridad deben ser informados. Se prohíbe la entrada al laboratorio durante un tiempo (ejemplo 30 min o según cambios de aire/hora), colocando señalización apropiada, para permitir que los aerosoles son removidos o las partículas más pesadas se depositen (aun cuando no se trate de un agente patógeno, como por ejemplo <i>E. coli</i> , dado que la inhalación altas dosis de aerosoles puede generar respuesta inmune exacerbada). Si el laboratorio no cuenta con un sistema central de evacuación de aire, se procederá a la descontaminación bajo la supervisión del encargado de bioseguridad. Para este fin se debe utilizar ropa protectora y protección respiratoria apropiada. Todo el material de limpieza utilizado se tratará como si fuera material de desecho infectado.
Derrame en centrífuga con/sin capachos de bioseguridad	Con capachos de bioseguridad: Todos los capachos de bioseguridad con cierre hermético deben ser trasladados a un gabinete de bioseguridad. En este, pueden ser abiertos cuidadosamente soltando lentamente el cierre y se procederá a su desinfección por autoclavado o agentes químicos. Sin capachos de bioseguridad (solo para grupos de riesgo 2 e inferior. Capacho de bioseguridad obligatorio para BSL3 y BSL4): Si se sospecha o sabe que un recipiente se ha roto mientras está funcionando la centrífuga, se debe detener el motor y mantener el equipo cerrado (por ejemplo 30 min) para permitir que se deposite el material. Si descubre la ruptura de un tubo recién cuando se ha abierto la centrífuga, esta se vuelve a tapar inmediatamente y según patógeno (grupo de riesgo 2 e inferior) mantener el equipo cerrado (por ejemplo 30 min) para luego proceder a la descontaminación del derrame según lo descrito arriba.
Derrames de sangre	Limpiar los derrames de sangre utilizando los elementos de protección personal para evitar el contacto de la sangre con la piel. Se debe utilizar soluciones de hipoclorito de sodio recién preparadas que contengan cloro disponible a razón 5 g/L.

*Tabla según indicaciones del Manual de Bioseguridad en el laboratorio, OMS 2005 [7].

Para otros incidentes no especificados en la tabla, es obligatorio avisar al encargado de bioseguridad y/o jefe de laboratorio y evaluar la necesidad de asistir al servicio de salud más cercano.

Para mayor información, consultar las siguientes referencias: [22-24].

5.3. Bioterios o laboratorios de bioseguridad para animales (ABSL)

Adaptado del Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, 3ª edición, OMS [7]. El empleo de animales de laboratorio con fines experimentales y de diagnóstico impone al usuario la obligación moral de adoptar todas las medidas necesarias para evitar que aquéllos padezcan dolores o sufrimientos innecesarios, tal como se establece en la legislación nacional vigente (Ley N°20.380) [25]. Para evaluar el bienestar animal se recomienda el uso de indicadores de bienestar animal cuantificables [26].

Adicionalmente se debe respetar el principio de las 3 R de Russell y Burch [27].

- **Reemplazar** el modelo experimental en caso que la respuesta a la pregunta de investigación pueda obtenerse en modelos in vitro o modelos no vivos (ej. Modelos computacionales). Adicionalmente, en caso de requerirse un organismo completo, se debe seleccionar el modelo de menor escala evolutiva, dado que su sistema nervioso central es menos desarrollado y por tanto se cree que su capacidad de sufrir y sentir es menor. Es decir, se debe justificar el modelo animal a utilizar considerando todas las posibilidades de reemplazo.
- **Reducir** el número de animales al mínimo suficiente para obtener una diferencia estadísticamente significativa, de modo que no se utilicen animales de manera indiscriminada.
- **Refinar:** esto dice relación con minimizar todo malestar y sufrimiento a los animales, proporcionando las condiciones necesarias para que ellos se desarrollen y se comporten lo más cercano a las condiciones naturales posible. Se debe proporcionar alojamiento cómodo, higiénico y de dimensiones suficientes, así como agua y comida de buena calidad y en cantidad suficiente.

Al final del experimento habrá que sacrificar los animales con el procedimiento menos cruel posible. Un resumen de estos métodos se encuentran descrito en [28, 29].

Cuando se trabaja con animales siempre hay que considerar lo siguiente:

1. El comportamiento y necesidades de los animales (grado de agresividad y tendencia a morder o arañar, alojamiento en grupos o separados, etc.).
2. Los endoparásitos y ectoparásitos naturales.
3. Susceptibilidad a zoonosis (transmitir enfermedades al ser humano).
4. La posible diseminación de alérgenos.

Para ello, se recomienda que las características de cada especie sean respetadas, incorporando las recomendaciones de un veterinario, de la literatura y guías de trabajo con animales [26].

El alojamiento de los animales varía según las características de cada especie que abarca desde jaulas micro-aisladoras apilables hasta zonas completas de contención.

Por motivos de seguridad, los animales deben estar alojados en una sala independiente, separada del laboratorio. Si se trata de una sala contigua, deberá estar construido de tal modo que sea posible aislarlo de las partes públicas del laboratorio en caso de necesidad, así como para las operaciones de descontaminación y desinfección.

Cuando se trabaja con animales involucrando agentes potencialmente patógenos se debe considerar además lo siguiente:

1. La vía normal de transmisión del patógeno
2. Los volúmenes y las concentraciones que van a manejarse
3. La vía de inoculación
4. En su caso, la vía de excreción de los agentes y formación de aerosoles

El nivel de bioseguridad de los bioterios se clasifica en cuatro niveles (ABSL-1 a ABSL-4) según la evaluación del riesgo y el grupo de riesgo al que pertenecen los microorganismos que se utilizan. Como en el caso de los laboratorios de bioseguridad, los requisitos relativos a las características de diseño, el equipo y las precauciones son cada vez más estrictos a medida que aumenta el nivel de seguridad. Las directrices son

acumulativas; es decir, cada nivel incorpora los requisitos de los niveles inferiores (Tabla 7).

Tabla 7. Niveles de contención de los bioterios: Resumen de los procedimientos y medidas de seguridad.

Grupo de Riesgo	Nivel de Contención	Procedimientos de Laboratorio, equipos de seguridad, protección personal y manejo de desechos
1	ABSL1*	Acceso restringido, ropa y guantes protectores
2	ABSA2	Procedimientos del ABSA1, más señales de advertencia del riesgo. Gabinetes de bioseguridad de clase I o II para actividades que producen aerosoles. Descontaminación de desechos y jaulas antes del lavado.
3	ABSL3	Procedimientos del ABSL2, más acceso controlado. Gabinete de bioseguridad y ropa protectora especial para todas las actividades.
4	ABSL4	Procedimientos de ABSL3, más acceso restrictamente restringido. Muda de ropa antes de entrar. Gabinetes de bioseguridad clase III o trajes de presión positiva. Ducha a la salida. Descontaminación de todos los desechos antes de su salida de las instalaciones.

*ABSL: Laboratorio de bioseguridad para animales.

Bioterios – nivel de bioseguridad 1 (ABSL1)

Se cumplirán todos los requisitos de los laboratorios de BSL1 (sección 5.2.2) y de prácticas BSL2 (sección 5.2.3).

Este nivel es el apropiado para mantener a la mayoría de los animales después de la cuarentena (salvo los primates no humanos, respecto de los cuales debe consultarse a las autoridades nacionales) y para los animales que son inoculados deliberadamente con agentes del grupo de riesgo 1. Se necesitan técnicas microbiológicas apropiadas. El director del bioterio debe determinar las políticas, procedimientos y protocolos para todas las operaciones, así como para el acceso al bioterio. Se instituirá un programa apropiado de vigilancia médica para el personal y se preparará y adoptará un manual de seguridad de las operaciones.

Bioterios – nivel de bioseguridad 2 (ABSL2)

Se cumplirán todos los requisitos de los laboratorios de BSL2 (sección 5.2.2) y de prácticas BSL2 (sección 5.2.3).

Este nivel es apropiado para el trabajo con animales a los que se inoculan deliberadamente microorganismos del grupo de riesgo 2. Se aplicarán las siguientes precauciones de seguridad:

1. Las puertas deben abrirse hacia dentro y cerrarse solas.
2. La calefacción, la ventilación y la iluminación deben ser apropiadas.
3. Si se instala ventilación mecánica, el flujo de aire debe dirigirse hacia dentro (presión negativa). El aire utilizado se evacuará al exterior y no se reciclará a ninguna otra parte del edificio.
4. No se admitirá ningún animal distinto de los utilizados con fines experimentales.
5. Se dispondrá de cabinas de seguridad biológica (clases I o II) o jaulas aislantes con suministro especial de aire y evacuación de aire a través de filtros HEPA para aquellas tareas que puedan entrañar la generación de aerosoles.
6. Se dispondrá de una autoclave in situ o cerca del bioterio.
7. El material de los lechos de los animales se eliminará de modo que se reduzca al mínimo la producción de aerosoles y polvo.
8. Todos los materiales de desecho y de los lechos deben descontaminarse antes de ser eliminados.
9. Se restringirá en lo posible el uso de instrumentos punzantes o cortantes. Éstos se recogerán siempre en recipientes resistentes y a prueba de perforación, provistos de tapa, y serán tratados como material infeccioso.
10. El material destinado al tratamiento con autoclave o a la incineración debe transportarse sin riesgo en recipientes cerrados. Las carcasas de animales deben ser guardadas a -20°C hasta su inactivación.
11. Las jaulas de los animales se descontaminarán después de su uso.
12. En el local se utilizará ropa y equipo de protección, que se retirará a la salida.
13. Se instalarán lavatorios y el personal se lavará las manos antes de salir del bioterio.
14. Todas las lesiones a personas, por leves que sean, deberán ser tratadas de forma apropiada, notificadas y registradas.

Bioterios – nivel de bioseguridad 3 (ABSL3)

Se cumplirán todos los requisitos de los laboratorios de BSL3 (sección 5.2.2) y de prácticas BSL3 (sección 5.2.3)

Este nivel es apropiado para trabajar con animales que son inoculados con agentes incluidos en el grupo de riesgo 3, o cuando así lo indique la evaluación del riesgo. Todos los sistemas, prácticas y procedimientos habrán de ser revisados y certificados nuevamente una vez al año. Se aplicarán las siguientes precauciones de seguridad:

1. Deben cumplirse todos los requisitos correspondientes a los bioterios de los niveles de bioseguridad 1 y 2.
2. El acceso al bioterio estará separado por dos antecámaras.
3. En el vestíbulo se instalarán lavamanos y duchas.
4. Se dispondrá de una autoclave o incinerador en el ABSL-3.
5. Los animales infectados con microorganismos del grupo de riesgo 3 estarán alojados en jaulas aislantes con suministro especial de aire y evacuación de aire a través de filtros HEPA.
6. Los lechos de los animales tendrán el mínimo polvo que sea posible.

Bioterios – nivel de bioseguridad 4 (ABSL4)

Se cumplirán todos los requisitos de los laboratorios de BSL4 (sección 5.2.2) y de prácticas BSL4 (sección 5.2.3).

El trabajo que se realice en estas instalaciones normalmente guardará relación con el del laboratorio de contención máxima – nivel de bioseguridad 4, y habrá que armonizar las normas y los reglamentos nacionales y locales para aplicarlos a ambos tipos de instalaciones. Para el trabajo en laboratorios que requieren trajes especiales se utilizarán prácticas y procedimientos especiales, además de los que se describen a continuación.

1. Se cumplirán todos los requisitos de los bioterios de los niveles de bioseguridad 1, 2 y 3.

2. Las zonas en las que se alojen los animales infectados con agentes del grupo de riesgo 4 mantendrán los criterios de contención descritos y aplicados en los laboratorios de contención máxima – nivel de bioseguridad 4. Para el intercambio de materiales que no puedan ser tratados en la autoclave se dispondrá de una caja de paso con cierre hermético cuyo extremo limpio estará situado fuera de salas de contención.
3. Todas las manipulaciones de animales infectados con agentes del grupo de riesgo 4 se realizarán en condiciones de contención máxima – nivel de bioseguridad 4.

5.4. Agentes de riesgo biológico

5.4.1. Bacterias

Las bacterias son organismos procariontes que carecen de organelos envueltos por una membrana. Miden entre 0,5 y 5 μm y su morfología es variada, incluyendo estructuras esféricas, o de varas rectas, curvadas o espirales. Se encuentran envueltas por una membrana y se agrupan en tres fenotipos: Gram-positivas, Gram-negativas y Micoplasma. Mientras que el micoplasma carece de una pared celular, las bacterias Gram-positivas poseen una pared celular gruesa de varias capas de peptidoglicano. Las bacterias Gram-negativas tienen una pared celular más delgada y una segunda membrana que contiene lipopolisacáridos y lipoproteínas. Además, algunas bacterias Gram-negativas pueden formar estructuras latentes, altamente resistentes denominadas esporas. Estas poseen una corteza y están protegidas a través de una manta rígida, impermeable. Estas características estructurales influyen en las formas de inactivación de las bacterias, como también en la eficacia de determinados antibióticos que afectan la pared celular, tales como penicilina.

Las bacterias se reúnen en los **cuatro grupos de riesgo** definidos en el capítulo 5.1 “Evaluación del riesgo biológico”. El manejo de bacterias constituye un campo de actividades múltiples, que van desde el **uso con fines estrictamente experimentales** de cepas no patógenas y patógenas, caracterización biológica de ellas, estudio de mecanismos de protección para las enfermedades que determinan, etc., a su **manejo** en

laboratorios clínicos, en laboratorios industriales para obtener de ellas productos biológicos, la eliminación de material, especialmente hospitalario contaminado con ese tipo de organismos o en el manejo directo del enfermo. Además, las bacterias también se usan masivamente para la amplificación de genomas episomales (plásmidos), que codifican en muchos casos resistencias a antibióticos. En este contexto, es de primordial importancia evitar su liberación y propagación en el medio ambiente, aun cuando pertenecen “solo” al grupo de riesgo I.

Al infectar a un animal o humano hospedero, se puede inducir una respuesta inmune (inflamación), que puede ser exacerbada por endotoxinas (lipopolisacárido), puede secretar exotoxinas, o formar esporas que permiten su sobrevivencia por periodos extendidos. Las bacterias patógenas son aquellas que causan enfermedad en humanos o animales, en tanto otras colonizan el cuerpo humano o animal y pueden no causar enfermedad, a no ser que se interrumpa su sistema inmune o barrera natural a la infección (ej. inmunocomprometido o inmunosuprimido). Para bacterias patógenas, la literatura registra numerosos casos de accidentes de laboratorio debidamente comprobados, entre estos algunos fatales [23, 30].

Es en todo este contexto que existe preocupación por las medidas de protección frente a este riesgo, tanto para las personas en contacto directo con el agente patógeno, como para el ambiente y la comunidad. Por tanto, su clasificación en grupos de riesgo y recomendación de trabajo bajo niveles de bioseguridad 1-4 forman parte de todo un mecanismo necesario para prevenir el riesgo, de entre las que deseamos destacar el enorme valor que tiene la concientización, educación y capacitación que debiera tener toda persona que labora con este tipo de material.

Toda persona que trabaja o ingresa a trabajar en un laboratorio que manipula bacterias u otros microorganismos, cualquiera sea su grado de peligrosidad, debiera recibir un instructivo sobre trabajo en ambiente estéril, manipulación de material estéril, definición de riesgo y contaminación. Se recomienda programar periódicamente charlas o grupos de discusión sobre bioseguridad personal y del ambiente.

Para definir el nivel de bioseguridad para la manipulación de bacterias, se recomienda observar la clasificación señalada tanto en las “*Pathogen Safety Data Sheets*

and Risk Assessment, Public Health Agency of Canada” [5] como también en la American Type Culture Collection buscando cada bacteria en particular [6].

5.4.2. Virus

Los virus son agentes infecciosos que sólo replican en células vivas de otros organismos; por ende, son parásitos intracelulares obligatorios. Pueden infectar todas las formas de vida, incluyendo humanos, animales, plantas, bacteria y arquea.

Estructuralmente, consisten al menos de ácido nucleico protegido por una cápside proteica. En muchos casos, los virus además son envueltos por una membrana lipídica decorada con proteínas de envoltura. Según la clasificación de Baltimore, los virus se agrupan por su estrategia de replicación de su genoma; siendo este de ADN o ARN, de hebra doble o simple, siendo esta última de polaridad negativa o positiva. Existen muchas familias virales que pueden infectar a humanos o animales. Algunos infectan solamente determinadas especies, mientras que otros pueden infectar un rango amplio de diferentes hospederos. Algunos virus producen infecciones persistentes (producción constante de partículas virales sin que la célula hospedera se muere), infecciones latentes (estado silente en que el virus no replica y no hay síntomas observables), o infecciones agudas (se manifiestan síntomas bruscamente y son de corta duración). Existen también virus que alteran el genoma del hospedero, integrando el genoma viral (por ejemplo, los retrovirus).

Todos los virus que infectan a humanos debieran ser manipulados bajo estrictas normas de Bioseguridad Nivel 2 o mayor. Los virus de otras especies de mamíferos debieran ser también manipulados a estos niveles, ya que en ocasiones pueden infectar y causar alguna patología en humanos (zoonosis). Este es el caso de algunos virus, como el virus de la Rabia, los hantavirus, o los ebolavirus. De particular consideración al respecto son los arbovirus, virus transmitidos por artrópodos (del inglés *arthropod-borne viruses*), algunos de los cuales causan enfermedades severas en humanos. Tanto para los virus de especies animales como para los virus de plantas, debiera considerarse su potencial impacto en el medio ambiente chileno y, por lo tanto, observar todas las normas para su manipulación y contención. Al respecto, se han dictado normas estrictas

por las instituciones controladoras de las actividades agrícolas, ganaderas y forestales [31]. De particular importancia dentro de este grupo es el virus de la fiebre aftosa y la tuberculosis bovina para evitar su re-introducción y control, respectivamente (Resolución 3397 Exenta. “*Fija las exigencias sanitarias para la internación de carnes de cerdo enfriadas o congeladas*” [32]; Resolución 7561 Exenta. “*Establece pruebas diagnósticas oficiales para el control y erradicación de la tuberculosis bovina del Ministerio de Agricultura*”, Servicio Agrícola y Ganadero; Dirección General [33]).

Para la clasificación de riesgo de los virus que define el nivel de bioseguridad para su manipulación, se recomienda observar la clasificación señalada tanto en las “*Pathogen Safety Data Sheets and Risk Assessment, Public Health Agency of Canada*” [5] como también en la American Type Culture Collection buscando cada virus en particular [6]. En estas páginas se señala el grupo de riesgo del virus, la patogenicidad de un virus, su transmisión, si existen vacunas disponibles y agentes para su inactivación como también si un virus requiere permiso del respectivo Servicio de Salud Pública, por su potencial peligro para la salud humana, o del respectivo Departamento de Agricultura, por su potencial peligro para las actividades agrícolas y ganaderas. A modo de ejemplo, se encuentra en anexos una hoja de datos para los hantavirus (Anexo 4).

Es importante señalar que la manipulación de muestras de humanos y animales infectados naturalmente con virus del grupo de riesgo 3, que no involucra la propagación viral, puede realizarse actividades en laboratorios de nivel BSL2 de contención (capítulo 5.2.2), usando prácticas operativas de nivel BSL3 (capítulos 5.2.3). Esto dado que la cantidad de agente viral infeccioso que se maneja es baja. Las muestras pueden ser tales como muestras de humanos infectadas con virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), virus linfotrópico humano T (HTLV), Andes hantavirus y hepatitis C.

5.4.3. Vectores virales

Un vector viral se define como partícula viral o vehículo para introducir material genético exógeno en el núcleo de una célula. Por lo general derivan de un virus del cual se ha removido información genética de tal forma de impedir su replicación y la

formación de progenie. Consisten en ácido nucleico de interés (genoma reducido con genes de interés) empaquetado por proteínas estructurales y en algunos casos de una envoltura lipídica. Los vectores virales pueden introducir material genético a células dependiendo de sus proteínas de superficie, que a su vez determinan el tropismo viral que define las especies, tejidos y células con las cuales pueden interactuar de forma específica para permitir la introducción del material genético a la célula. Estas proteínas permiten al vector viral la alta eficiencia de la transferencia de genes, en comparación con estrategias alternativas como son los vectores no virales (moléculas coadyuvantes tales como lípidos catiónicos). Los vectores virales utilizados con mayor frecuencia en protocolos de transferencia genética son derivados de los retrovirus, adenovirus, virus asociados a adenovirus y del virus de herpes simplex. El diseño del vector viral asegura que éste sólo sirve para el transporte de material génico exógeno sin dar origen a nuevas partículas virales replicativas en las células transducidas. En consecuencia, un vector viral puede infectar células y expresar sus genes, por lo cual hay que disminuir el riesgo a la exposición accidental a un vector viral.

La evaluación de riesgo depende de los siguientes factores:

- Naturaleza del vector viral. Algunos vectores pueden integrarse al genoma de células (ej. retrovirus) por lo que presentan un riesgo mayor; un gen podría insertarse en una localización con consecuencias perjudiciales (ej. inactivación de genes supresores tumorales)
- Naturaleza del transgen. Un mayor riesgo existe cuando se trata de genes tales como oncogenes, factores de crecimiento, toxinas.
- La “suplementación en trans” de genes que son requeridos para la producción del vector viral (ej. plasmidios, línea celular productora) para disminuir el riesgo de escape y reversión.
- Tropismo viral. En el caso de amplio tropismo pueden ingresar a diferentes células, tejidos y especies; en el caso del tropismo selectivo pueden ingresar solo a tipos celulares restringidos de una especie en particular. Mayor cautela debiera ser tomada cuando el tropismo incluye células humanas.

- Vía de transmisión. Esta puede incluir vías tales como la exposición percutánea, mucosa y otras, por lo que medidas de prevención debieran ser tomadas al respecto.
- Estabilidad del vector en el ambiente e inactivación. Ésta depende de la morfología viral, incluyendo o no una envoltura membranosa.
- Se debiera tener en consideración también la posibilidad de recombinación entre el vector viral y virus endógenos que podrían contener secuencias homólogas y por tanto a la generación de virus competente de replicar.

Cada proyecto que involucre el uso de vectores virales debiera ser revisado por el CIB; esta revisión debiera incluir la evaluación de riesgo, las cantidades a producir del vector y si será utilizado in vitro o in vivo en animales y la asignación del nivel de bioseguridad requerida. Cuando el vector viral es básico sin incluir factores de riesgo mencionadas arriba, pueden ser manejados bajo normas de Bioseguridad de nivel 2 (BSL2) en un gabinete de seguridad de nivel 2.

5.4.4. Hongos

Extraído de Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica [34]. El determinante más importante en el riesgo biológico es la patogenicidad del microorganismo. Cada agente infeccioso tiene asignado un grupo de riesgo en función de su virulencia (historia de infección adquirida en la comunidad), su potencial epidémico, la dosis requerida para iniciar la infección (dosis infectiva), la ruta de infección o de transmisión (tanto en el laboratorio como en la comunidad), el espectro de huéspedes susceptibles incluyendo los reservorios animales y sus vectores, la viabilidad del agente infeccioso en el entorno del laboratorio y la existencia de tratamiento. Esto se aplica también para los hongos.

- Todos los cultivos de hongos (especialmente los hongos con micelio aéreo) y muestras clínicas debieran ser manejadas en una cabina de bioseguridad de clase II, para evitar la contaminación del laboratorio y del personal. Es permisible el manejo de cultivos de levaduras en la mesa de trabajo del laboratorio, aunque siempre tratados como material infeccioso.

- Las placas con medios de cultivo para hongos debieran ser selladas, para evitar su apertura accidental mediante cinta adhesiva permeable al oxígeno que no pierda esta propiedad en una estufa de incubación con ambiente húmedo (Scotch N° 483).
- En caso de utilización de medios de cultivo en tubo, éstos debieran disponer de tapón de rosca de seguridad.
- En ambos casos su apertura sólo debiera hacerse en cabina de bioseguridad de clase II.
- En el caso de trabajar con aislamientos fúngicos dimórficos conocidos, las precauciones a seguir son sencillas si se dispone de condiciones de nivel de contención 3. En su defecto, sellar las placas con cinta adhesiva y reservar su apertura sólo en cabina de bioseguridad de clase II. No hacer preparaciones con cinta adhesiva para su observación microscópica, ni cultivos en porta. Lo aconsejable en este caso es separar una porción de la colonia, para su montaje en porta, en la cabina de bioseguridad de clase II.
- En ningún caso debe descartarse la posibilidad que se trate de un hongo dimórfico sistémico. Por ejemplo, *Coccidioides immitis* es a menudo considerado hongo de crecimiento rápido no productor de una masa micelial pigmentada; sin embargo, en algunos casos puede producir una pigmentación rosada o verdosa. Sus artroconidias pueden estar ausentes en su crecimiento en ciertos medios de cultivo, como en aquellos que contienen cicloheximida, pero sí están presentes en otro tipo de medios de cultivo.

Por otro lado, la ausencia de macroconidias características de *Histoplasma capsulatum*, tampoco debe descartar la posibilidad que se trate de este tipo de hongo, dado que pueden ser de aparición tardía (además, se cree que probablemente son las microconidias las responsables de la infección por transmisión aérea). Todo crecimiento de hongo filamentoso en medio con cicloheximida con hifas estériles, especialmente si son cortas, debe ser considerado con alta capacidad infectiva hasta que no se demuestre lo contrario.

- El mayor problema de seguridad en el laboratorio al trabajar con hongos dimórficos no lo constituye el área de Micología, donde probablemente se trabaja siguiendo

unas pautas de bioseguridad adecuadas, sino las otras áreas del laboratorio donde se procesará la misma muestra para estudio bacteriológico. En este caso pueden seguirse dos tipos de conductas:

- a) Cualquier medio de cultivo que deba incubarse más de tres días debiera ser sellado y no abierto sin antes inspeccionar la presencia de formas miceliales.
- b) Ante la apertura de forma accidental de cualquier placa con la presencia de un hongo filamentoso, esta debiera ser rápidamente cerrada y manipulada en una campana de bioseguridad para su examen microscópico. La presencia o ausencia de estructuras conidiales en el momento de la exposición debiera ser tomada en cuenta para poder tomar medidas médicas sobre el incidente.

El transporte de este tipo de hongos dimórficos sistémicos debiera realizarse bajo las condiciones estrictas descritas para los mismos (ver más adelante), ya que los conidios infecciosos pueden formarse durante su transporte y constituir un riesgo para quien lo transporta o recibe el aislamiento.

- Existen microorganismos que, a pesar de ser dimórficos, no suelen constituir un riesgo infeccioso por medio de aerosoles como es el caso de *Sporothrix schenckii*; sin embargo, es un patógeno potencial tras inoculación subcutánea o en contacto con mucosa ocular. En este caso concreto, al no constituir un riesgo infeccioso por vía aérea, podría ser procesado en un nivel de contención 2.

También se ha sugerido que los hongos dematiáceos pueden constituir riesgo de infección por vía respiratoria en su forma micelial, dada su capacidad infectiva, en pacientes inmunodeprimidos tras contacto con los mismos en la naturaleza.

A pesar de que la mayoría de los restantes hongos oportunistas y saprofitos, no parecen constituir un riesgo de infección para el personal de laboratorio inmunocompetente, la dispersión de las conidias en el laboratorio puede producir reacciones de tipo alérgico, así como contaminación de los medios de cultivo. Por tanto, para proteger al trabajador como al resto del trabajo del laboratorio, debiera evitarse grandes exposiciones al ambiente, abriendo tan sólo los medios de cultivo positivos en cabinas de bioseguridad clase II.

- El vertido de todo material infeccioso debiera realizarse en recipientes identificados como contenedores de material infeccioso, para que puedan ser descontaminados apropiadamente.

5.4.5. Protozoos

En el caso de los protozoos, los más abundantes en Chile son algunos intestinales (*Entamoeba histolítica*, *Giardia intestinalis* y *Coccidia*) y otros presentes en muestras de sangre y tejidos (*Plasmodium*, *Toxoplasma gondii*, *Pneumocistis carinii* y *Trypanosoma cruzi*) [35]. Existe tratamiento farmacológico para la mayoría de los parásitos, pero se recomienda que las personas con problemas de inmunosupresión sean advertidas previamente al trabajo con muestras que puedan contener estos agentes. En particular, se recomienda un especial cuidado a las mujeres embarazadas ya que algunos de estos parásitos (especialmente *Toxoplasma gondii*) puede afectar el desarrollo fetal.

Para el trabajo en laboratorio se recomienda las prácticas de seguridad y contención a nivel de bioseguridad BSL-2, ABSL-2 para el trabajo con cualquiera de estos protozoos [35, 36].

En el caso de los protozoos intestinales, se recomienda la desinfección de toda superficie que haya tenido contacto con estas muestras (particularmente heces) con una solución de cloro (1:16 v/v). En el caso de un derrame de las muestras sobre alguna superficie se puede usar peróxido de hidrógeno al 3% (agua oxigenada comercial sin diluir).

5.4.6. Muestras humanas

Tal como se indica en la Tabla 2, las muestras humanas deben trabajarse con prácticas BSL-2, ya que son muestras de información limitada de las cuales habitualmente no se cuenta con información para descartar patógenos. Por tanto, se deben tomar todas las medidas de seguridad, así como de contención para el trabajo con muestras humanas. Para el caso de muestras en las que se ha descartado la presencia de patógenos, estas muestras se podrán trabajar con condiciones BSL-1.

De acuerdo con el Decreto N°1.201 Exento de 2014, del Ministerio de Salud de Chile [37], todos los “profesionales y técnicos del área de la salud, y personal que desarrolle labores de atención de salud directa a pacientes, todos pertenecientes a establecimientos de salud de los Servicios de Salud del país, experimentales y de la Atención Primaria de Salud municipal”, están obligados de vacunarse contra el virus de la hepatitis B.

5.4.7. Animales de experimentación, animales infectados y muestras derivadas

Las precauciones y medidas para el trabajo con animales de experimentación y animales infectados se describen en la sección 5.3.

En caso de trabajar con muestras animales de las cuales no se cuenta con información para descartar patógenos, se debiera trabajar con prácticas BSL-2. Para el caso de muestras en las que se ha descartado la presencia de patógenos, estas muestras se podrán trabajar con condiciones BSL-1.

El nivel de bioseguridad de las instalaciones para los siguientes tipos de animales vendrá determinado normalmente por el grupo de riesgo del agente estudiado o según lo que indique la evaluación del riesgo:

1. **Mamíferos.** Las recomendaciones detalladas en la sección anterior aplican para el uso de ratones y ratas y debiera observarse un manejo en lo posible de nivel 2, a menos que se certifique que los animales no son portadores de agentes infecciosos.
2. **Aves y reptiles.** Las aves y reptiles debieran mantenerse en espacios habilitados que provean resguardos de contención similares a aquellos usados para mamíferos pequeños. En lo posible, debiera limitarse la posibilidad de vuelo de las aves, condición que ofrece mayores oportunidades de escape (adaptado del Manual de Normas de Bioseguridad, Fondecyt-CONICYT 2008) [35].
3. **Anfibios y peces.** Estos animales debieran ser mantenidos en viveros especializados de acuerdo a las condiciones requeridas para cada especie. Algunas especies de uso común en laboratorios pueden sobrevivir en el ambiente natural de nuestro país y pueden prosperar significativamente (por ejemplo, ranas del género *Xenopus* o salmónidos). Otras especies que puedan sobrevivir fuera del

agua (ranas y sapos), debieran mantenerse en recintos que posean barreras físicas especiales que impidan su escape al medio ambiente. Dado que son organismos acuáticos, se recomienda velar porque ellos no escapen por desagües; para ello, las tuberías de desagüe debieran contener medidas especiales de retención de los animales, incluyendo embriones y larvas. Para ello se debiera implementar barreras. Los peces transgénicos en particular están sujetos a normativas del SERNAPESCA [38], organismo que debe emitir los certificados de importación y uso correspondientes (adaptado del Manual de Normas de Bioseguridad, Fondecyt-CONICYT 2008) [35].

4. **Invertebrados** (adaptado del Manual de Normas de Bioseguridad, Fondecyt-CONICYT 2008 [35] y del Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, 3ª edición, OMS [7]). Nuevamente debe procurarse la contención física de todo material biológico, tanto los animales adultos como sus células, huevos, embriones o larvas. Estas barreras serán físicas (salas especiales, puertas de acceso especiales, trampas, contenedores especiales, etc.) y de procedimiento. Al igual que para animales mayores, deben existir precauciones especiales si se trata de animales voladores o acuáticos. Los insectos voladores (por ejemplo, *Drosófila*) representan un problema serio de contención por lo que deben seguirse las normas establecidas por el SAG para ellos [39]. Por ejemplo, deben mantenerse en habitaciones selladas, con doble puerta, con rejillas sobre los sistemas de ventilación que no permitan el paso de los animales, etc.

Precauciones especiales:

1. Disponer en salas distintas los invertebrados infectados de los no infectados.
2. Estas salas podrán sellarse para ser fumigados.
3. Se dispondrá con facilidad de pulverizadores de insecticidas.
4. Se dispondrá de instalaciones de «enfriamiento» para reducir, cuando sea preciso, la actividad de los invertebrados.
5. El acceso se hará a través de un vestíbulo provisto de mosquiteras en las puertas y trampas para insectos.

6. Todos los conductos de salida de la ventilación y las ventanas que puedan abrirse estarán equipados con mosquiteras.
7. No se permitirá que se sequen los sifones de los fregaderos y desagües.
8. Todos los residuos se descontaminarán en la autoclave, ya que algunos invertebrados son resistentes a algunos insecticidas.
9. Se controlará el número de larvas y formas adultas de artrópodos voladores, reptadores y saltadores.
10. Los recipientes para garrapatas y ácaros se depositarán en cubetas con aceite.
11. Los insectos voladores infectados o potencialmente infectados se albergarán en jaulas de doble malla.
12. Los artrópodos infectados o potencialmente infectados se manipularán en cabinas de seguridad biológica o cámaras aislantes.
13. Los artrópodos infectados o potencialmente infectados podrán manipularse en bandejas de enfriamiento.

5.4.8. Líneas celulares y cultivos

En general el investigador debiera basarse en las recomendaciones del proveedor, ya que es posible que las líneas celulares comerciales contengan agentes patógenos, información que se encontrará en la ficha de la línea celular. Tal como se indica en la Tabla 2, las líneas celulares comerciales en general se pueden trabajar con prácticas BSL-1 ya que están analizadas y certificadas como desprovistas de patógenos.

Para líneas celulares no certificadas, así como cultivos primarios, la recomendación es la misma que para muestras humanas y animales de información limitada en la que no se descarta patógenos. Se debiera trabajar con prácticas BSL-2.

5.4.9. Plantas de experimentación, plantas infectadas y muestras derivadas

El uso de plantas de experimentación en investigación demanda que las instituciones albergantes establezcan protocolos de buenas prácticas e infraestructura adecuada que permitan garantizar niveles de seguridad, calidad y cuidado, razonables sobre todo para el medio ambiente. Esto es particularmente importante cuando se trata de trabajos con

plantas infectadas con patógenos, plantas genéticamente modificadas (GM), o plantas que conviven asociadas con microorganismos (incluyendo bacterias, hongos, virus, protozoos, algas, etc.) o pequeños animales (por ejemplo, artrópodos y nematodos). Adicionalmente, es importante recordar que varias de las especies utilizadas en la investigación científica en Chile, por ejemplo, *Nicotiana tabacum* y *Arabidopsis thaliana* no son endémicas de nuestro país. En consecuencia, el laboratorio que alberga a las plantas de experimentación debiera poseer una infraestructura (invernadero o cámara de crecimiento) y ubicación apropiada dentro del sistema de laboratorios de la institución.

Niveles de Bioseguridad en trabajo experimental con plantas

El propósito de establecer grados de contención en el trabajo con plantas radica en prevenir la transferencia de ADN recombinante de organismos transgénicos dentro del invernadero a poblaciones fuera del invernadero, lo cual también aplica para ensayos con microorganismos asociados a plantas. En este contexto se han establecido cuatro niveles de contención física para experimentos que involucran manejo de moléculas de ADN recombinante. Asimismo, clasifica los experimentos de acuerdo con los criterios de riesgo específicos y le asigna a uno de los cuatro niveles de bioseguridad identificados como: BL1-P, BL2-P, BL3-P y BL4-P.

A continuación, se proporciona una breve descripción de los cuatro niveles de bioseguridad y criterios utilizados para asignar experimentos a cada categoría [4, 40].

BL1-P: La designación BL1-P corresponde a un bajo nivel de contención para los experimentos con plantas transgénicas en las que no hay evidencia de que el organismo modificado pueda sobrevivir y propagarse en el medio ambiente y, si se libera accidentalmente, no representaría un riesgo ambiental. BL1-P también se aplica a los microorganismos asociados a plantas con ADN modificados que no pueden propagarse rápidamente y que no se tiene conocimiento que tengan efectos negativos en ecosistemas naturales o manejados (por ejemplo, *Rhizobium* y *Agrobacterium*).

BL2-P: La categoría BL2-P está asignada a experimentos con plantas transgénicas y organismos asociados, que, si se liberan fuera del invernadero, podrían ser viables en el medioambiente circundante, pero tendrían un impacto insignificante o podrían manejarse fácilmente. BL2-P es necesario para el trabajo con plantas transgénicas que

pueden exhibir una nueva característica de tipo malezas o que pueden ser capaces de cruzarse con malezas o especies relacionadas que crezcan en las cercanías. La contención BL2-P se asigna a los experimentos transgénicos que utilizan el genoma completo de un agente infeccioso o patógeno autóctono. Este nivel de contención también es apropiado para los microorganismos transgénicos asociados a las plantas que son nativos de la zona y potencialmente dañinos para el medio ambiente, manejables o exóticos, pero que no tienen potencial para causar daños graves a los ecosistemas manejados o naturales. La clasificación BL2-P también se aplica a experimentos que utilizan insectos transgénicos asociados a plantas o pequeños animales, siempre que no representen una amenaza para los ecosistemas manejados o naturales.

BL3-P: Las instalaciones BL3-P están diseñadas para prevenir la liberación accidental de plantas transgénicas, patógenos de plantas u otros organismos que tienen un potencial de impacto perjudicial sobre el medio ambiente. Esta categoría también se aplica a la investigación de plantas no GM que involucran agentes infecciosos exóticos capaces de causar daños ambientales graves. En estos casos, es la plaga o patógeno el que requiere contención; la planta transgénica en sí misma puede no representar una amenaza. BL3-P también se recomienda para plantas transgénicas que contienen los genes de un agente infeccioso exótico que potencialmente pueden reconstituir un genoma funcional completo del agente infeccioso. Los experimentos que usan plantas u organismos transgénicos que contienen genes que codifican toxinas de vertebrados también se llevan a cabo en BL3-P.

BL4-P: El laboratorio nivel BL4-P se recomienda para experimentos con ciertos agentes infecciosos exóticos y fácilmente transmisibles que son patógenos potencialmente serios de los principales cultivos de un país. También aplica para plantas que puedan generar toxinas para vertebrados.

En términos generales, es posible recomendar ciertas normas básicas para el trabajo seguro con plantas GM asumiendo que la planta modificada no representa un riesgo mayor para la salud humana que la que puede presentar la planta silvestre [41]. Sin embargo, en aquellos casos en que se pretenda realizar experimentos con plantas

expresando mayores cantidades, o diferentes toxinas, alérgenos u otros compuestos con actividades biológicas nocivas (y que no están presentes en la planta no-modificada) se debería recurrir a la autoridad nacional correspondiente (SAG) antes de comenzar los experimentos.

Las recomendaciones generales serían:

- Se recomienda que el lugar de propagación de plantas GM esté físicamente separado de los lugares en que se realicen otras actividades relacionadas tales como la propagación de plantas “tipo silvestres”. Es decir, estos laboratorios debieran construirse de tal modo de implementar sectores de "área limpia" y "área sucia" para reducir el peligro de contaminación cruzada y facilitar su limpieza.
- El recinto de propagación de las plantas GM debería estar diseñado para resistir eventos catastróficos y/o climáticos extremos y así evitar la fuga de material vegetal.
- Se recomienda destinar una estructura permanente para el trabajo experimental (cámara de crecimiento dentro de un edificio o invernadero), pero una estructura temporal bien mantenida también puede ser adecuada (por ejemplo, túneles invernaderos).
- Se debiera controlar el acceso al recinto de crecimiento de plantas GM. Las puertas debieran sellarse bien, y debieran mantenerse cerradas con llave, en ausencia de personal calificado.
- Se recomienda la instalación de dos puertas, entre el recinto donde se cultivan las plantas GM y el medio ambiente. Se debiera capacitar al personal para evitar que ambas puertas se encuentren abiertas al mismo tiempo.
- Es posible que no todos los recintos para el cultivo de plantas contengan plantas GM. Por lo tanto, se debieran poner letreros indicando cuáles son los lugares que poseen plantas GM, indicando el nombre del(de la) Investigador(a) Responsable.
- Se debiera mantener el recinto limpio y ordenado, utilizando repisas resistentes a cloro u otros agentes desinfectantes.
- El piso debiera ser permanente, sólido y de fácil lavado.

- Se debiera evitar el ingreso de vectores animales (por ejemplo, insectos, roedores, etc.) al recinto mediante el uso de mallas protectores u otras medidas apropiadas (por ejemplo, franjas y sellos de goma en las puertas).
- En el caso de invernaderos, es recomendable la eliminación de otras plantas en la vecindad de lugar de material vegetal GM, mediante el uso de herbicidas y/o pavimentación.
- Se debe evitar el contacto directo de las plantas GM con el suelo, paredes y repisas, manteniéndolas en maceteros u otros recipientes. Los maceteros u otros recipientes no se debieran disponer directamente en el piso, si no que, en repisas, estantes, bandejas, etc.
- Se recomienda evitar que el agua contaminada (por ejemplo, por exceso de riego) sea evacuada al desagüe común.
- Se recomienda la instalación de lavaderos y alfombras pegajosas en la entrada del recinto para controlar la diseminación de material GM.
- Se recomienda la esterilización de todos los desechos antes de ser eliminados. Esto incluye maceteros, medios de crecimiento, además de las plantas GM. Se recomienda utilizar una autoclave, aunque la incineración también es una alternativa.
- Se recomienda el uso de delantales, los cuales no debieran salir de la dependencia de trabajo al aire libre sin estar protegidos (por ej., en una bolsa plástica sellada).
- El traslado de plantas de un recinto a otro (por ej. al laboratorio común) se debiera realizar en una forma que minimice la eventual diseminación de material vegetal (polen, semillas, etc.). Para ello se recomienda usar recipientes cerrados tipo cajas o bolsas herméticas.
- Se debiera evitar la diseminación de polen y semillas mediante el uso de bolsas durante la manipulación de las flores (por ej. Arabidopsis y tabaco).
- Debiera capacitarse al personal que usará las instalaciones, para que tome las medidas adecuadas para prevenir la diseminación de plantas GM al medio ambiente.

5.4.10. ADN recombinante y sintetizado *de novo*

Los constantes avances tecnológicos alcanzados por el hombre han permitido en los últimos años el desarrollo de nuevas técnicas de biología molecular que permiten el estudio y la manipulación de animales, plantas, microorganismos, líneas celulares, etc. Con características y objetivos muy diversos, el establecimiento de técnicas al alcance de cualquier investigador tales como la electroporación de ácidos nucleicos, ensayos de microinyección nuclear, fusión celular, producción de organismos transgénicos, generación de ratones *knock-out*, edición de genomas, etc., ha planteado la necesidad de definir regulaciones y controles en la investigación y los productos producidos con estas técnicas, ante la posibilidad de eventuales impactos negativos de ellos tanto en la salud humana como en los ecosistemas.

Los objetivos generales de estas regulaciones son la protección de la salud y del medio ambiente, sin limitar la investigación y el desarrollo en el campo de la biotecnología. Para ello debieran existir normativas reguladoras y estructuras organizativas, que garanticen un nivel razonable de seguridad, pero que, al mismo tiempo, permitan el desarrollo de un clima de apoyo por parte de la comunidad científica y de la opinión pública en general, y que además promuevan el continuo avance científico y tecnológico en este campo.

Definiremos una molécula de ADN recombinante (ADN-r) como aquella construida *in vitro* mediante tecnología que permite la unión de fragmentos de ADN, natural o sintético con moléculas de ADN receptoras (vectores), y que tienen la capacidad de replicarse en una célula viva [4]. También es necesario considerar en esta definición aquellos fragmentos de ADN natural o fragmentos de ADN sintético no funcionales, pero que pudieren activarse bajo ciertas circunstancias o dar origen a un polipéptido potencialmente tóxico (por ejemplo, una toxina).

Quedan incluidas, además, dentro del término de ADN-r, todas aquellas moléculas de ADN diseñadas, manipuladas o construidas *in vitro* según se describe en el párrafo anterior que, luego de introducirlas en una célula, se replican *in vivo* debido a la unión de estos segmentos de ADN (natural enriquecido o sus equivalentes sintéticos) al ADN intracelular. En términos más generales, pueden ser considerados ADN-r todos los

arreglos genómicos que resultan de la introducción de ADN proveniente de organismos diferentes o cepas del mismo organismo.

Asimismo, se incluye en la categoría de ADN-r todos aquellos fragmentos sintéticos o naturales que, aunque carecen de codificación genética para proteínas (definida ésta como una secuencia de codones con significado biológico), corresponden a regiones de control de la expresión génica tales como promotores, terminadores, enhancers, silenciadores, o codifican segmentos no traducidos, como UTRs, intrones o RNA estructurales (por ej. tRNAs, rRNAs, U-RNAs, snRNAi, viroides, etc.) que eventualmente se transcriben y que pudieran expresarse *in vivo* con una función estructural o regulatoria (por ej. lncRNAs, miRNAs, siRNAs).

Es evidente que resulta complejo establecer normas de bioseguridad que puedan ser supervisadas y controladas a nivel nacional. Sin embargo, es recomendable establecer normas mínimas que se cumplan en todas las instituciones o laboratorios en las que se emplea tecnología que generan ADN-r. Las más elementales deberían incluir:

- Procedimientos o métodos de bioseguridad aplicados en los laboratorios de Microbiología.
- Instalaciones de laboratorios que proporcionen las barreras físicas necesarias concordantes con la estimación de peligro que presenten los agentes biológicos que se emplearán. Sobre estas normas ya se han dado especificaciones en el capítulo 5.2.2., las que pueden ser consultadas.
- En el caso de experimentos con ADN recombinante, se debiera aplicar barreras biológicas específicas relacionadas con la manipulación y descarte de estas moléculas, para reducir la probabilidad de propagación del ADN recombinante hacia el exterior (por ej. evitar descarte directo de ADN-r al desagüe).

La seguridad en las actividades de trabajo con ADN-r depende esencialmente de los investigadores y personas que las realizan, puesto que se estima difícil prever todas las situaciones posibles. En consecuencia, el criterio personal es un factor primordial en la protección de la salud y el medio ambiente.

En este mismo sentido, el(la) Investigador(a) Responsable de un proyecto científico que involucre tecnologías de ADN-r, debiera incorporar en dichos proyectos

una carta de bioseguridad extendida por el CIB de su institución o en su defecto una declaración de conocimiento cabal de las regulaciones básicas de bioseguridad en esta materia. En este aspecto, debiera ser preocupación del(de la) Investigador(a) Responsable del proyecto en cuestión, velar por el cumplimiento de estos requisitos por parte de su grupo de trabajo, organizando o coordinando con la unidad especializada de su institución las capacitaciones necesarias para ello.

Se sugiere que los CIBs (o unidad equivalente responsable de la bioseguridad en la institución) establezcan las medidas de control del trabajo con ADN recombinante y la supervisión periódica necesaria para que éstas se cumplan.

5.4.10.1. Normas y barreras biológicas específicas.

Los experimentos con ADN-r se pueden dividir en 4 clases, en relación al control que sobre estos experimentos debiera ejercerse:

1. Experimentos que requieren autorización de alguna agencia estatal y la aprobación del CIB de la institución (o bien comité equivalente), antes de su iniciación.
2. Experimentos que sólo requieren de la aprobación del CIB (o comité equivalente) antes de su iniciación.
3. Experimentos que requieren sólo de una notificación al CIB antes de su iniciación (o comité equivalente).
4. Experimentos exentos.

1. Experimentos que requieren autorización de alguna agencia estatal y la aprobación del CIB de la institución (o bien comité equivalente), antes de su iniciación.

Los experimentos que implican modificación genética de un microorganismo, planta o animal que eventualmente pueda ser liberado al medio ambiente necesitan de una autorización otorgada por una agencia nacional competente (por ej. ISP, SAG, etc.) y la aprobación del CIB correspondiente a la institución. Los experimentos que pertenecen a esta categoría, no podrían iniciarse sin la presentación previa de la información pertinente en ambas instancias.

Los organismos de control pueden redactar un formulario para efectuar esta solicitud, o bien se sugiere utilizar el formulario propuesto en el presente Manual (Anexo 1). En cualquiera de las dos situaciones, el documento debería contener como información mínima:

- Investigación propuesta, objetivos, justificación de la solicitud de permiso.
- Antecedentes sobre el organismo modificado: Clasificación taxonómica, ciclo de vida, capacidad de transferencia génica.
- Genes introducidos: fuente y función del manipulado, características del organismo dador, posible impacto en el receptor.
- Metodología: descripción de la metodología para generar las moléculas híbridas, mecanismo de introducción del organismo en estudio.
- Estabilidad genética y expresión de los genes manipulados. Contención propuesta: física y/o biológica.

En la eventualidad que el protocolo de experimentación involucre la liberación de organismos al medio ambiente (ver sección 9.1.2. “Liberación intencionada con fines experimentales”), se debería informar además aspectos como:

- Consideraciones ecológicas en cuanto al papel del organismo modificado en el ecosistema.
- Reproducción y/o diseminación del organismo modificado.
- Interacciones biológicas: efecto sobre competidores, hospederos, parásitos.
- Indicar las condiciones del ensayo en campo y medidas de contención si se requieren (ej. plantas transgénicas, efecto del viento en diseminación de polen, presencia de animales herbívoros, insectos diseminadores, etc.).
- Monitoreo del experimento de campo.
- Evaluación de riesgo.

Las condiciones de contención para tales experimentos debieran ser establecidas por las autoridades correspondientes en el momento de aprobarse el experimento en cuestión. Dichos experimentos también requerirían la aprobación del CIB antes de su iniciación (o comité equivalente).

Particularmente, dentro de los experimentos que requieren autorización y aprobación se puede ejemplificar los siguientes:

- Formación deliberada de ADN-r que contiene genes para la biosíntesis de moléculas tóxicas de efectos letales (ej. toxinas microbianas tales como las toxinas botulínicas, toxina tetánica, toxina diftérica, neurotoxina de *Shigella*, genes codificantes para oncogenes). Los niveles de contención para estos experimentos deben ser determinados por la agencia estatal que corresponda y aprobados y verificados por el CIB correspondiente.
- La liberación deliberada en el medio ambiente de cualquier organismo que contenga ADN-r, excepto ciertos organismos específicos, cuya liberación dependerá de las normas y condiciones que establezcan las autoridades del sector respectivo.
- La transferencia deliberada de una característica que confiera a los microorganismos resistencia a los medicamentos (ej. antibióticos), la cual no sea adquirida en forma natural, y que comprometa el uso de medicamentos para el control de agentes patógenos en el campo de la medicina humana o veterinaria o en la agricultura.
- La transferencia deliberada de ADN recombinante o de ADN o ARN a seres humanos. Estos experimentos, además deben contar con el informe de la Comisión de Ética respectiva.

2. Experimentos que sólo requieren de la aprobación del CIB (o comité equivalente) antes de su iniciación.

Los investigadores que lleven a cabo experimentos pertenecientes a esta categoría, deberían presentar con anterioridad a la iniciación de los experimentos al CIB (o comité institucional equivalente de bioseguridad) un documento que contenga:

- Una descripción de la(s) fuente(s) del ADN.
- La naturaleza de las secuencias del ADN insertadas.
- Los hospederos y vectores que se han de utilizar (ej. *E. coli* y plásmido).
- Si se hará un intento deliberado de obtener la expresión de un gen extraño y, en caso afirmativo, qué proteína se producirá.
- Las condiciones de contención.

Para este propósito, se recomienda utilizar el Anexo 1 de este Manual.

Al momento de presentar un proyecto para postular a fondos concursables, sean éstos provenientes del Estado, empresa privada, consorcio o fondos extranjeros, este debería incluir una declaración del (de la) Investigador(a) Responsable del proyecto que resguarde la Bioseguridad para los operadores experimentales y el medio ambiente, siguiendo las normas apropiadas propuestas en este manual y citando el conocimiento de las mismas.

El CIB (o el comité institucional equivalente de bioseguridad) examinaría todas estas propuestas antes de comenzar los experimentos. Las solicitudes para autorizar un grado menor de contención en experimentos pertenecientes a esta categoría, deberían ser consideradas por las autoridades correspondientes bajo condiciones bien especiales.

Algunos de estos casos pueden clasificarse en 4 subgrupos, los cuales se ilustran a continuación:

Sub-grupo A. Experimentos en los que se emplean agentes patógenos humanos o animales (Ver Anexo 4 como referencia).

- Experimentos en los que se introduce el ADN-r en los microorganismos GR II (Ver Tabla 1), los que se deben llevar a cabo en condiciones de contención de Nivel de BSL-2.
- Experimentos en los que se introduce ADN-r en microorganismos GR III (Ver Tabla 1), deben llevarse a cabo en condiciones de contención de Nivel de BSL-3.
- Experimentos en los que se introduce ADN-r en microorganismos GR IV (Ver Tabla 1) pueden llevarse a cabo en condiciones de contención Nivel de BSL-4.
- Cualquier experimento en gran escala utilizando microorganismos GR II al IV (más de 10 litros de cultivo).

Sub-grupo B. Experimentos en los cuales el ADN proveniente de agentes patógenos de humanos o animales (GR II, GR III y GR IV) se clona en sistemas de hospedero-vector procarióticos o eucarióticos inferiores no patógenos.

- Los experimentos con ADN-r en los que el ADN de agentes GR II o GR III se transfieren a organismos procarióticos o eucarióticos inferiores no patógenos, pueden llevarse a cabo en condiciones de contención de nivel de BSL-2.
- Los experimentos con ADN-r en los que el ADN de agentes GR IV se transfiere a organismos procarióticos o eucarióticos inferiores no patógenos, pueden llevarse a cabo en condiciones de contención de Nivel de BSL-2, después de haberse demostrado que sólo una fracción, irreversiblemente defectuosa, del genoma del agente se encuentra presente en un recombinante dado. A falta de esta demostración, las condiciones de contención serían de Nivel de BSL-4.

Los experimentos pertenecientes a Nivel de BSL-1 o mínimo estarían exentos de atenerse a estas normas.

Sub-grupo C. Experimentos en los que se emplean virus infecciosos de ADN, de ARN animal o vegetal, virus defectuosos de ADN o de ARN animal o vegetal, en presencia de virus auxiliares en sistemas de cultivo de tejidos animal o vegetal.

- Los experimentos en los que se emplean virus infecciosos o defectuosos pertenecientes a la clase GR II. GR III y GR IV, pueden llevarse a cabo en presencia de virus auxiliares en las condiciones de contención Niveles de Bioseguridad 2, 3 y 4, descritas respectivamente para cada clase de agente infeccioso.
- Los experimentos en los que se emplean virus animales o vegetales infecciosos o defectuosos en presencia de virus auxiliares y que no se contemplan en lo descrito anteriormente, pueden llevarse a cabo en condiciones de contención de Nivel de BSL-1.

Sub-grupo D. Corresponde a los experimentos con ADN-r en los que se emplean plantas o animales enteros.

El ADN-r o las moléculas de ARN derivadas de éste procedentes de cualquier fuente (excepto aquellas que representen una fracción mayor de dos tercios de un genoma vírico eucariótico), pueden transferirse a cualquier organismo vertebrado no humano y propagarse en condiciones de contención física comparable al Nivel de BSL-

1 y apropiadas de aplicar al organismo objeto de estudio. No obstante, en el caso de uso de una fracción de genómico vírico, es requisito que el investigador haya demostrado previamente que la fracción del genoma vírico empleado no conduce a una infección viral productiva en un modelo celular homólogo *in vitro*.

Si existen experimentos en los cuales se emplearan plantas y animales enteros no especificados en este manual, el CIB de la institución albergante de la investigación determinaría las condiciones apropiadas de contención.

Sub-grupo E. Experimentos en que se realizan volúmenes a gran escala.

En aquellos experimentos en los que se produjera más de 10 litros de cultivo, el CIB decidiría las condiciones apropiadas y las normas de contención física para el uso en gran escala de organismos que contienen moléculas de ADN recombinante.

3. Experimentos que sólo requieren notificación al CIB en el momento de iniciarse.

Corresponde a esta categoría, todos aquellos experimentos que no han sido incluidos en las secciones anteriores de este capítulo. Todos esos experimentos pueden llevarse a cabo en condiciones de contención del Nivel de BSL-1. Asimismo, para estos experimentos se recomienda que el investigador complete y presente al CIB local en el momento de la iniciación del experimento, un formulario con la descripción básica de ellos (se sugiere al menos completar el Formulario propuesto en este Manual en Anexo 1). El CIB examinaría todas esas propuestas, pero no se requeriría que el CIB efectúe el examen antes de la iniciación del experimento.

También corresponden a esta categoría aquellos experimentos que implican la formación de moléculas de ADN-r que contienen menos de dos tercios del genoma de cualquier virus eucariótico. Se incluye también trabajos con ADN que contenga fragmentos de genoma de virus procedentes de más de una familia, pero cada fragmento es menor de dos tercios del genoma de cada virus.

En este caso, las moléculas de ADN-r que contengan menos de dos tercios del genoma de cualquier virus eucariótico (considerándose idénticos todos los virus de una misma

familia), pueden propagarse y mantenerse en células de cultivos de tejidos en condiciones de contención de Nivel de BSL-1. Sin embargo, en dichos experimentos sería necesario demostrar que las células carecen de virus auxiliares para las familias específicas de los virus defectuosos que se están utilizando.

Dentro de este grupo se incluyen también el manejo de cualquier otra bacteria Gram-positiva que no esté especificada en la siguiente lista: *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus brevis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium acetobutylicum*, *Lactobacillus casei*, *Listeria grayi*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus avium*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus durans*.

4. Experimentos exentos

Se eximen o exceptúan de estas normas las siguientes moléculas de ADN-r, y no sería necesaria la inscripción del experimento en el CIB:

- Fragmentos de ADN que no están presentes en organismos o virus y son diseños artificiales (por ej. secuencias de adaptadores sintéticos con sitios de restricción).
- Aquellos fragmentos que constan enteramente de segmentos del ADN de una sola fuente no cromosómica o vírica (ej. plásmidos o virus nativos no asociados a patogenicidad que pueden contener segmentos sintéticos, pero de su propia secuencia).
- Fragmentos que constan enteramente del ADN de un hospedero procariótico (incluidos sus plásmidos o virus autóctonos) y que se propagan sólo en ese mismo hospedero (o una cepa estrechamente relacionada de la misma especie)
- Moléculas compuestas enteramente de ADN procedente de un hospedero eucariótico y que se propagan sólo en ese hospedero.

- Ciertas moléculas específicas de ADN recombinante, que consisten enteramente en segmentos de ADN procedentes de especies diferentes, que intercambian ADN por medio de procesos fisiológicos conocidos, aunque uno o más de los segmentos sean equivalentes sintéticos.
- Otras clases de moléculas de ADN-r, si las autoridades -con asesoramiento de la agencia que corresponda- después de la debida notificación, encuentran que no presentan riesgos significativos para la salud o el medio ambiente.

Existen otros grupos de experimentos de ADN-r que pueden eximirse de estas normas, y que se detallan a continuación:

- Uso de ADN-r en cultivo de tejidos. Las moléculas de ADN-r que contengan menos de la mitad de cualquier genoma vírico eucariótico (considerándose idénticos todos los virus de una sola familia), propagadas y mantenidas en células de cultivos de tejidos, están eximidas de cumplir con estas guías.
- Experimentos en los que se emplean sistemas de hospedero-vector con *E. coli* K12 o sus derivados mutantes de genotipo conocido. Los experimentos en los que se emplean estos sistemas de hospedero-vector, se eximirían de cumplir con estas guías siempre que:
 - el hospedero *E. coli* no contenga plásmidos capaces de conjugarse o fagos transductores generalizados.
 - se utilicen como vectores bacteriófagos lambda o derivados lambdoides o Ff, o plásmidos incapaces de conjugarse. Por otra parte, los experimentos en los que se inserta en *E. coli* K-12 el ADN de organismos procarióticos que intercambian información genética con *E. coli* pueden realizarse con cualquier vector de *E. coli* K-12 (ej. un plásmido conjugable).
 - Para aquellos experimentos eximidos de cumplir con las normas se recomiendan condiciones de contención física Nivel de BSL-1. Sin embargo, hacen la excepción a esta norma los experimentos en los que se efectúa la clonación deliberada de genes que contienen codificación para la biosíntesis de moléculas tóxicas en vertebrados.

- Experimentos en los que se emplean sistemas hospedero-vector con levaduras del género *Saccharomyces*. Los experimentos en los que se emplean sistemas hospedero-vector con *Saccharomyces cerevisiae* o con *Saccharomyces uvarum* se eximirían de cumplir con estas guías. Para ellos se recomienda seguir condiciones de contención física Nivel de BSL-1. La excepción a esta norma la constituyen aquellos experimentos en gran escala (ej. más de 10 litros de cultivo) y aquellos en los que se recurre a la clonación deliberada de genes que contienen el código para la biosíntesis de moléculas tóxicas en los vertebrados.
- Experimentos en los que se emplean sistemas hospedero-vector con *Bacillus subtilis*. Cualquier cepa de *Bacillus subtilis* esporógena que no vuelva a producir esporas con una frecuencia mayor de 10^{-7} (1 bacteria en 10 millones) puede emplearse para clonar ADN, con excepción de los experimentos que se enumeran más adelante. Para los experimentos de laboratorio eximidos se recomiendan las condiciones de contención física Nivel de BSL-1.
- Para los experimentos de fermentación en gran escala se recomiendan las condiciones de contención física Nivel de BSL-1 a gran escala (más 10 litros cultivo). Sin embargo, después de examinar el CIB los datos apropiados de un sistema determinado de hospedero-vector, se permitiría cierta libertad en la aplicación de las condiciones. La excepción a esta norma la constituyen experimentos en que se recurre a la clonación deliberada de genes que contienen el código para la biosíntesis de moléculas tóxicas en vertebrados.

Elementos extracromosómicos de bacterias Gram-positivas. Se eximen de estas normas las moléculas de ADN-r enteramente derivadas de elementos extracromosómicos de los organismos enumerados a continuación, incluidos vectores como fago Lambda, derivado Lambdoide o fagos del tipo filamentoso, también llamados Ff, o plásmidos incapaces de conjugarse.

5.4.10.2. Trabajos con ADN-r en agentes etiológicos

La experimentación con agentes etiológicos prevalentes en Chile debiera ser informado al CIB quién evaluará la factibilidad de la investigación preservando las normas de bioseguridad establecidas en este Manual. A modo de referencia, se recomienda obtener información respecto a los agentes etiológicos de vigilancia epidemiológica en Chile a través de los documentos de MINSAL “Informe de Vigilancia de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud, 2014” [42] y “Definiciones y criterios de notificación de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) para la vigilancia epidemiológica, 2017” [43].

El uso de cualquier microorganismo no especificado en esas listas, debiera ser consultado al CIB antes de iniciar cualquier tipo de experimentación.

5.4.11. Organismos genéticamente modificados

Las diversas técnicas de ingeniería genética permiten actualmente introducir, mover o modificar segmentos de DNA recombinantes o endógenos a un organismo en particular. Es así como la modificación genética permite estudiar cómo segmentos específicos de DNA regulan la función a nivel celular y sistémico. Además, esta tecnología permite modificar o introducir características deseables en organismos pertenecientes a todos los niveles de la escala evolutiva. Esta modificación genética podría tener un potencial impacto imprevisto en el medio ambiente e inducir un desequilibrio no deseado para los seres vivos, incluyendo el ser humano. Es por esto que la modificación genética en seres vivos tiene un gran impacto social y ha estado en tela de juicio por mucho tiempo.

En este Manual definiremos Organismo Genéticamente Modificado (OGM), como a aquel organismo cuyo cambio en el patrón de expresión génica ha sido alterado a nivel genómico (nuclear o mitocondrial) o epigenómico, por medio de técnicas de ingeniería genética. Estas modificaciones incluyen a la transgénesis, cisgénesis, delección de segmentos génicos (knock out) y edición génica, junto con transformaciones y combinaciones entre ellas. La modificación puede estar presente en todo el organismo o bien restringirse a un conjunto particular de células. En esta definición se excluyen a

aquellos organismos que han sido seleccionados por medio de técnicas de selección artificial o bien las modificaciones en el genoma que se han generado en forma espontánea (ej. inducidas por factores ambientales). Sin embargo, un organismo que haya sido seleccionado por medio de selección artificial, pero que el origen de la característica deseable haya surgido por medio de técnicas de ingeniería genética (o bien el segmento de DNA modificado se transmita a la progenie), es considerado un OGM.

La introducción o modificación de un gen en distintos contextos celulares puede producir una alteración en el patrón global de expresión génica de algunas células, lo que puede llevar a la aparición de propiedades no previstas con anterioridad. Además, se pueden integrar múltiples copias de una secuencia de DNA al genoma y generar re-arreglos o deleciones. Estas modificaciones no deseadas se han visto incluso con la nueva técnica CRISP/CAS9 que está diseñada para editar solo uno o unos pocos nucleótidos en un lugar específico del genoma. Debido a esto, es posible que existan riesgos inesperados al liberar OGMs al medioambiente. Es por ello que, en esta etapa de liberación al medioambiente, se debe aplicar en todos los casos el principio precautorio. Este principio sostiene que la ausencia de conocimiento científico no se debe interpretar como inocuidad, y que los riesgos se deben considerar en el contexto de cada OGM, caso a caso. Entre los riesgos posibles se encuentran: competencia con especies naturales, transferencia horizontal de genes, efectos adversos en la salud humana y animal, aumento de la presión selectiva en las especies modificadas y no modificadas, pérdida en el control del manejo y cambios a largo plazo en las condiciones bióticas o abióticas.

La generación de un OGM, su importación desde otro centro de investigación o de distribución, debiera ser precedida por la entrega de la información respectiva al CIB de la institución donde trabaja el investigador. Se debiera proveer información acerca de la especie animal en cuestión, del método de modificación génica usado y del material genético introducido (mapas de vectores, secuencias, sitios de integración en el genoma, nivel y sitio de expresión, secuencias codificantes, etc.), lugar de almacenamiento, Investigador(a) Responsable y personal autorizado para su uso y

manipulación [35]. Además, en el caso de la liberación controlada al medioambiente de los OGM, es el CIB el responsable de velar porque se realice una evaluación del riesgo biológico caso a caso, y coordinar que las medidas que se aplicarán para el manejo de estos riesgos, sean coherentes con la legislación nacional y regulaciones internacionales.

Nuestro país adscribe a protocolos internacionales que regulan la contención, liberación y transporte de OGM, como el protocolo de Cartagena en Biodiversidad [44], la convención en Biodiversidad Biológica [45], y la Convención internacional de Plantas [46, 47]. A nivel nacional, el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) es la entidad responsable de la regulación para la importación, liberación y transporte de OGM según Res. N°1.523/2001 [48]. Los investigadores también deberán referir a las instrucciones y regulaciones requeridas por el Ministerio del Medio Ambiente [49]. De manera más general, las normas básicas de bioseguridad para trabajo con OGM son similares a las que regulan los experimentos con ADN-r, con algunas disposiciones propias, lo cual puede consultarse en la publicación "Biosafety Issues of Genetically Modified Organisms" [50].

En el caso de la producción, mantención y transporte de OGM, se recomienda su trabajo en un nivel de bioseguridad BSL-2 [51]. Sin embargo, este nivel de bioseguridad puede aumentar en el caso de que el gen introducido o modificado codifique algún agente clasificado como BSL-3 o 4. En este caso los OGM se deberán trabajar en las condiciones especificadas para el agente en cuestión.

En el caso particular de las plantas genéticamente modificadas se sugiere tomar las siguientes indicaciones [35]:

1. Se recomienda que el lugar de propagación de plantas GM esté físicamente separado de los lugares en que se realicen otras actividades relacionadas, tales como la propagación de plantas "tipo silvestres". Es decir, que estos laboratorios debieran construirse de tal modo de implementar sectores de "área limpia" y "área sucia", para reducir el peligro de contaminación cruzada y facilitar su limpieza.
2. El recinto de propagación de las plantas GM debiera resistir las condiciones climáticas locales para evitar la fuga de material vegetal.

3. Se debiera controlar el acceso al recinto de crecimiento de plantas GM. Las puertas debieran sellarse bien, y debieran mantenerse cerradas con llave en ausencia de personal calificado. Se recomienda la instalación de dos puertas entre el recinto donde se cultivan las plantas GM y el medio ambiente. Se debiera capacitar al personal, que es aconsejable dejar ambas puertas abiertas al mismo tiempo.
4. Es posible que no todos los recintos para el cultivo de plantas contengan plantas GM. Por lo tanto, se debieran poner letreros indicando cuáles son los lugares que poseen plantas GM, indicando el nombre del(de la) Investigador(a) Responsable.
5. Mantener el recinto limpio y ordenado, utilizando repisas resistentes a cloro u otros agentes desinfectantes.
6. Se debiera evitar el ingreso de vectores animales (por ejemplo, insectos, roedores, etc.) al recinto mediante el uso de mallas protectoras u otras medidas apropiadas (ej. franjas y sellos de goma en las puertas).
7. Se recomienda que el agua contaminada (por ejemplo, por exceso de riego) no entre al desagüe común.
8. Se recomienda la instalación de lavaderos y alfombras pegajosas en la entrada del recinto para controlar la diseminación de material GM.
9. Se requiere la esterilización de todos los desechos GM antes de botarlos. Esto incluye maceteros y medios de crecimiento, además de las plantas GM. Se recomienda utilizar una autoclave, aunque la incineración es una alternativa.
10. Se recomienda el uso de delantales, los cuales no debieran salir al aire libre sin estar protegidos (por ejemplo, en una bolsa).
11. El traslado de plantas de un recinto a otro (ej. al laboratorio) se debiera realizar en una forma que minimice la diseminación de material vegetal (polen, semillas, etc.), mediante el uso de recipientes cerrados (ej. cajas o bolsas).
12. Se debiera evitar la diseminación de polen y semillas mediante el uso de bolsas en las flores (ej. Arabidopsis y tabaco).
13. Se debiera capacitar al personal que usará las instalaciones para que tome las medidas adecuadas para prevenir la diseminación de plantas GM al medio ambiente.

5.4.12. Priones

Los priones son los agentes responsables de causar la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), tembladera o “scrapie” y otras enfermedades neurodegenerativas relacionadas con humanos y animales. De acuerdo a las recomendaciones establecidas por el U.S. Department of Health and Human Services del NIH (BMBL, 5ta edición [36]), los priones humanos se manipulan en laboratorios BSL-2 o 3, dependiendo de la actividad, con la mayoría de los priones humanos tratados como BSL-3. En muchos casos, los priones de la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) también se pueden manipular en BSL-2. Sin embargo, debido a la alta probabilidad de que los priones de EEB se puedan transmitir a seres humanos, en ciertas circunstancias se requiere el uso de instalaciones BSL-3. Todos los demás priones animales se consideran patógenos BSL-2. Sin embargo, cuando un prion de una especie se inocula en otra, el animal infectado resultante debe tratarse de acuerdo con las directrices que se aplican a la fuente del inóculo. En la tabla 8 se describe una lista de los priones de mamíferos comunes y la recomendación general de BSL necesaria para su manipulación.

Tabla 8. Priones y recomendaciones del nivel de bioseguridad.

Extraído de “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Edition” [36]

Hospedero Natural	Enfermedad	Isoforma PrP Patogénica	Nivel de Bioseguridad
Humano	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD)	HuPrP ^{Sc}	2/3
	Kuru	HuPrP ^{Sc}	2/3
	Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS)	HuPrP ^{Sc}	2/3
	Insomnio Familiar Fatal (FFI)	HuPrP ^{Sc}	2/3
Bovino	Encefalopatía espongiforme bovina	BoPrP ^{Sc}	2/3
Oveja, cabra y muflón	Tembladera o “scrapie”	OvPrP ^{Sc}	2
Visón	Encefalopatía transmisible del visón	MkPrP ^{Sc}	2

Venado, alce	Enfermedad de desgaste crónica	MdePrP ^{Sc}	2
Gato	Encefalopatía espongiforme felina	FePrP ^{Sc}	2

Para una descripción detallada del análisis de riesgo y de las recomendaciones de bioseguridad en actividades de laboratorios que involucren agentes causales de encefalopatías espongiformes transmisibles, consultar el BMBL [36] y Leunda *et al* [52].

Para una descripción detallada de las medidas de bioseguridad para el manejo clínico y de laboratorio de pacientes con enfermedades priónicas, consultar el BMBL [36].

5.4.13. Biotoxinas

Las biotoxinas son sustancias venenosas producidas por organismos vivos (bacterias, hongos, protozoos, plantas, reptiles, anfibios, peces, equinodermos (erizos y estrellas de mar, moluscos e insectos) y no son sintetizadas por el hombre. A diferencia de la mayoría de los otros peligros biológicos, las biotoxinas no proliferan y, en ciertos aspectos, son comparables a las sustancias químicas orgánicas clásicas. Sin embargo, las biotoxinas se diferencian de las toxinas químicas en que no presentan riesgo por evaporación y muy pocas son activas al contacto con la piel (micotoxinas son la excepción).

5.4.13.1. Evaluación de riesgo y bioseguridad de biotoxinas

En el Decreto Supremo N°385 de 1980, Chile ratificó la Convención sobre la Prohibición del Desarrollo, la Producción y el Almacenamiento de Armas Bacteriológicas (Biológicas) y Toxínicas [53]. Debido a este decreto, la posesión, el uso bajo cualquier propósito (investigación, clínica, educacional, etc.) y la transferencia de biotoxinas con LD₅₀ < 100 µg/Kg de peso corporal de los organismos que producen dichas biotoxinas, deben obligatoriamente informarse y registrarse al Comité de Bioseguridad de la institución donde se manipula. En la tabla del Anexo 5 se describe como referencia algunas biotoxinas y sus LD₅₀. Esta tabla no pretende ser una recopilación exhaustiva. Para buscar LD₅₀ de biotoxinas no incluidas en esta tabla se recomienda utilizar la página web de la “Toxicology Data Network” [54].

Para la evaluación de riesgos que involucra biotoxinas se debe tomar en consideración [36, 55]:

1. Características de la biotoxina (por ejemplo, LD₅₀, si es solución o es en polvo, solubilidad).
2. Riesgos inherentes a los procedimientos experimentales y manipulaciones asociadas a la biotoxina (por ejemplo, autoinoculación, inhalación de aerosoles en forma no intencionada, acumulación estática al trabajar con polvos, etc.).
3. Cantidad total de toxina utilizada en relación con la dosis letal o citotóxica humana estimada.
4. Volumen del material manipulado.
5. Ruta de exposición.
6. Disponibilidad de tratamiento exitoso, vacunas o antitoxinas.
7. Formación y experiencia del personal.

La evaluación de riesgos define el nivel de bioseguridad y/o contención para trabajar con la biotoxina y es una combinación e integración de controles administrativos, controles de ingeniería, prácticas de trabajo y equipos de protección personal que mitiga el riesgo a un nivel aceptable.

Las biotoxinas con una LD₅₀ <50 µg/kg (por ejemplo, toxina del cólera, microcistina, aflatoxina y ricina) se clasifican como biotoxinas del grupo de riesgo 2 que requieren la contención del nivel de bioseguridad 2. Las biotoxinas con una LD₅₀ > 50 µg/kg, como el lipopolisacárido (LPS), se pueden manipular en instalaciones con nivel de bioseguridad 1, dependiendo de los procedimientos y de cómo se está usando la biotoxina.

5.4.13.2. Biotoxinas clasificadas como agentes selectos

El gobierno federal de EEUU clasifica algunas biotoxinas como agentes selectos, debido a su potencial para representar una amenaza severa a la salud pública y a la seguridad. Se puede encontrar una lista completa de estas biotoxinas en la página web del “Federal select agent program” del “Centers for Disease Control and Prevention” [56]. Su clasificación como agente selecto restringe su adquisición e importación desde

EEUU. En pequeñas cantidades, algunas de estas toxinas están exentas del registro como agentes selectos (Tabla 9), pero debieran seguir registrándose en el CIB.

Tabla 9. Biotoxinas clasificadas como agentes selectos y niveles de exención.

Biotoxina	Nivel de exención (mg)
Abrin	1000
Botulinum neurotoxins	1
Conotoxins, short, paralytic alpha	100
Diacetoxyscirpenol	10.000
Ricin	1.000
Saxitoxin	500
Staphylococcal Enterotoxins (Subtypes A, B, C, D, and E)	100
T-2 toxin	10.000
Tetrodotoxin	500

Extraído de [56].

5.4.13.3. Manipulación de biotoxinas

Debido a la alta peligrosidad de las biotoxinas, aún en pequeñísimas cantidades, se recomienda implementar estrictas medidas de seguridad con el objeto de prevenir su inhalación, absorción a través de la piel o membranas mucosas (típicamente debido a aerosoles), por ingestión o por lesiones con agujas, u otros accidentes que puedan comprometer la barrera normal de la piel. Una descripción detallada de la manipulación de las biotoxinas se encuentra descrito en Johnson *et al* [55]. En general, estas pueden manipularse usando las mismas pautas establecidas para las sustancias químicas altamente tóxicas, incorporando, además, medidas de seguridad adicionales según la evaluación de riesgo de cada procedimiento de laboratorio para esa biotoxina en particular. El trabajo con toxinas debiera llevarse a cabo solamente en habitaciones designadas con acceso controlado y en un área predeterminada del mesón de trabajo, utilizando las normas equivalentes a un laboratorio BSL-2. Cuando se estén manipulando, se recomienda colocar una señal en la puerta de acceso al laboratorio, indicando la presencia de la biotoxina y la prohibición de entrada a personal no autorizado. Algunos aspectos importantes a considerar, previo a la manipulación son:

1. Sistema de control de inventario: se debiera registrar la identidad, cantidad/volumen, forma física (solución, en polvo, liofilizado, etc.), responsable,

fecha de llegada, detalle y fecha de su uso, nombre del usuario, detalle de la cantidad, procedimiento y fecha de eliminación de desechos que lo contengan. Todas las entradas debieran registrarse en un libro encuadernado foliado, escrito con lápiz pasta.

2. Carpeta con las fichas de seguridad FDS (MSDS en sus siglas en inglés) específicos para cada biotoxina disponible en el laboratorio.
3. Protocolos escritos de seguridad para cubrir el uso de la(s) toxina(s) específica(s) que está(n) siendo manipulada(s).
4. Medidas de seguridad para proteger contra el acceso no autorizado a la(s) toxina(s), específicamente para prevenir su sustracción y robos.
5. Plan escrito de emergencias relacionadas con toxinas (derrame, exposición) publicado en un lugar visible.
6. Gabinete(s) de bioseguridad certificado(s) (BSC) clase II o III, o campanas de extracción, según lo determine el análisis de riesgo. La manipulación de soluciones que contengan toxinas de bajo peso molecular o trabajos que impliquen productos químicos o radionúclidos combinados con toxinas pueden requerir, además, el uso de un filtro de campana de carbón junto con la filtración HEPA.
7. Usar elementos de protección personal apropiados en forma permanente cuando se manipulen biotoxinas [55].

5.4.13.4. Descontaminación de biotoxinas

Todas las biotoxinas y los materiales contaminados con ellas deben inactivarse antes de ser desechados. Los materiales contaminados y las soluciones de desechos de toxinas pueden inactivarse por incineración o autoclave, o por tratamiento con un desinfectante adecuado, generalmente hipoclorito de sodio y/o hidróxido de sodio. Todos los materiales desechables, equipo y ropa de protección que puedan estar contaminados o potencialmente contaminados, deben ser descontaminados antes de su eliminación, reparación o limpieza. Una descripción detallada de la descontaminación de las toxinas se encuentra en Johnson *et al* [55], en el Manual de Bioseguridad para



Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados-Fondecyt-CONICYT

Laboratorios de la OMS [7], en el apéndice I del BMBL [36], y en la página web de la Oficina de Salud y Seguridad Ambiental de la Universidad de Virginia [57].

6. SUSTANCIAS QUÍMICAS Y RESIDUOS

6.1. Clasificación internacional y nacional de sustancias peligrosas

Desde la perspectiva de la prevención, el conocimiento de la peligrosidad de los productos químicos y de los efectos negativos potenciales que puedan producir, es fundamental para poder evaluar sus riesgos y tomar medidas encaminadas a reducirlos. Tan importante como es la obtención de este conocimiento es la forma de transmitir esta información de una manera clara, normalizada y fácilmente comprensible por los destinatarios. Con este objetivo, se ha elaborado una nueva herramienta de alcance internacional que va a permitir establecer un mayor control en la comunicación de los peligros asociados a los productos químicos: El Sistema Global Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (GHS) [58].

El empleo de productos químicos para mejorar la calidad de vida es una práctica difundida en todo el mundo. Si bien estos productos pueden ser beneficiosos, también pueden presentar efectos adversos para los seres humanos o el medio ambiente. Por esta razón, cierto número de países y organizaciones han desarrollado a lo largo de los años leyes o reglamentos que requieren la transmisión de la información necesaria, mediante etiquetas o fichas de datos de seguridad (FDS o MSDS, en sus siglas en inglés), a los usuarios de productos químicos. Dado el gran número de productos químicos disponibles en el mercado, ninguna entidad puede reglamentarlos todos ellos por sí sola. La información facilitada permite a los usuarios identificar estos productos y sus peligros, así como la adopción de medidas de seguridad apropiadas para su utilización.

6.1.1. Sistema reglamento transporte Naciones Unidas

La definición y clasificación de sustancias químicas se encuentra en la legislación y convenios internacionales promovidos por Naciones Unidas. La más utilizada corresponde el Reglamento de Transporte de Naciones Unidas que contempla nueve clases de sustancias peligrosas y en Chile se define en la Norma Chilena 382.Of2013 [59]. Este sistema asocia una identificación visual.

6.1.2. Sistema global armonizado de Naciones Unidas

El Sistema Global Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (cuyas siglas en inglés se corresponden con GHS) es una norma técnica no vinculante con alcance internacional, resultado del trabajo mediante consenso y cooperación voluntaria realizado entre instituciones nacionales y diversas organizaciones intergubernamentales, regionales y no gubernamentales, bajo la coordinación de la Organización Internacional del Trabajo (OIT). El documento del GHS [58] contiene criterios de clasificación armonizados, clases y categorías de peligro, y elementos de comunicación de peligros de los productos químicos riesgosos para la salud humana y el medio ambiente. Este documento abarca todo producto químico (sustancias y preparados) peligroso y cubre la exposición en los procesos de producción, almacenamiento y transporte, es decir, cualquier utilización en el lugar de trabajo o consumo que afecte a la salud y al medio ambiente. La excepción la constituyen los productos farmacéuticos, aditivos alimentarios, cosméticos y residuos de pesticidas en alimentos, a los que solo se aplicará en alguna etapa de su ciclo de vida, como son la exposición en el lugar de trabajo y el transporte.

El GHS, a pesar de estar dirigido en primera instancia a los gobiernos, instituciones regionales y organizaciones internacionales, contiene suficiente información e indicaciones para que aquellos que tienen que aplicar sus disposiciones puedan hacerlo. La disponibilidad de la información acerca de los productos químicos, sus peligros y la manera de proteger a las personas, permitirá la elaboración de programas nacionales para la gestión racional de los productos químicos. Una gestión racionalizada y generalizada de esa índole garantiza condiciones más seguras para la población y el medio ambiente en todo el mundo, permitiendo al mismo tiempo que se puedan seguir utilizando esos productos químicos. La armonización también facilitará el comercio internacional, al promover una mayor coherencia entre requisitos nacionales de clasificación y comunicación de peligros químicos que deben cumplir las compañías que se dedican al comercio internacional.

El GHS comprende los siguientes elementos [58]:

- a) Criterios armonizados para clasificar sustancias y mezclas con arreglo a sus peligros ambientales, físicos y para la salud.
- b) Elementos armonizados de comunicación de peligros, con requisitos sobre etiquetas y fichas de datos de seguridad.

El desarrollo del GHS empezó con la definición de los criterios de clasificación de riesgos para la salud y el medio ambiente, realizados por el grupo de trabajo de la OCDE sobre armonización de la clasificación y el etiquetado (grupo de trabajo ACE) y sobre los peligros físicos realizados por el grupo de trabajo CETMP-ONU/OIT.

Es importante destacar que el GHS se aplica a sustancias puras, diluidas y mezclas.

Los pictogramas empleados en el GHS se describen la en la Figura 4.

		
GHS01 Danger Unstable, Explosive	GHS02 Danger or Warning Flammable	GHS03 Danger or Warning Oxidising
		
GHS04 Warning Compressed gas	GHS05 Danger or Warning Corrosive cat. 1	GHS06 Danger Toxic cat. 1 - 3

		
GHS07	GHS08	GHS09
Warning Toxic cat. 4	Danger or Warning	Warning (for cat. 1)
Irritant cat. 2 or 3	Systemic health	(for cat. 2 no signal
Lower systemic health	hazards	word)
hazards		Environment

Figura 4. Símbolos de peligro normalizados.

Pictogramas de acuerdo a GHS, extraídos de [60].

6.1.3. Clasificación nacional de sustancias peligrosas

En Chile, las sustancias químicas se clasifican según la Norma Chilena 382:2013 [59]. Esta norma establece una clasificación de las sustancias peligrosas, en Clase y División, de acuerdo al riesgo más significativo que presentan en el transporte terrestre en territorio nacional.

Esta norma presenta dos listados de las sustancias peligrosas, el primero ordenado por su numeración de las Naciones Unidas (UN) y el segundo por orden alfabético indicando su peligro secundario y número de Guía de Respuesta a Emergencia (GRE).

Las Sustancias Peligrosas se clasifican en Clases, las cuales, a su vez pueden tener Divisiones. Una sustancia peligrosa puede presentar más de un tipo de riesgo a la vez, pero su ubicación en la Clase que corresponda estará determinada según su grado de peligrosidad.

La Norma Chilena 382 regula la división de las sustancias peligrosas en nueve Clases [59]. Sus pictogramas se encuentran detallados en la figura 4:

- Clase 1 – Sustancias y objetos explosivos.
- Clase 2 – Gases.

- Clase 3 – Líquidos inflamables.
- Clase 4 – Sólidos inflamables; sustancias que presentan riesgos de combustión espontánea; sustancias que en contacto con el agua desprenden gases inflamables.
- Clase 5 – Sustancias comburentes; peróxidos orgánicos.
- Clase 6 – Sustancias tóxicas y sustancias infecciosas.
- Clase 7 – Sustancias radioactivas
- Clase 8 – Sustancias corrosivas
- Clase 9 – Sustancias peligrosas varias.

Una descripción detallada de cada una de las clases se describe en la Figura 5.

Clase 1: Explosivos

	Esta clase incluye sustancias explosivas, artículos explosivos y elementos que producen efecto explosivo pirotécnico. Se subdivide en seis subclases: • División 1.1: Sustancias y objetos que presentan riesgo de explosión de toda la masa (nitroglicerina, dinamita). • División 1.2: Sustancias y objetos que tienen un riesgo de proyección, pero no un riesgo de explosión de toda la masa (nitrate de amonio, pólvora). • División 1.3: Sustancias y objetos que presentan riesgo de incendio y generar pequeños efectos de onda de choque o proyección, o ambos efectos, pero no un riesgo de explosión de toda la masa (dinitrofenolatos, mecha no detonante). • División 1.4: Sustancias y objetos que no presentan un riesgo notable. Generalmente se limita a daños en el embalaje (Infladores de bolsas neumáticas, módulos de bolsas neumáticas, pretensores de cinturones de seguridad, o mecha de combustión rápida). • División 1.5: Sustancias muy insensibles que tienen un riesgo de explosión de toda la masa (sustancias explosivas muy insensibles NU 0482).
--	---

	División 1.6: Objetos sumamente insensibles que no tienen un riesgo de explosión de toda la masa (objetos explosivos extremadamente insensibles NU 0486).
--	--

Clase 2: Gases

	Esta clase se refiere a cualquier tipo de gas comprimido, licuado o disuelto bajo presión. Se distinguen tres subclases: - División 2.1: Gases inflamables. Incluyen generalmente a hidrocarburos procedentes de la destilación del petróleo o de fuentes de gas natural (propano, hidrógeno). - División 2.2: Gases no inflamables, no tóxicos. Son gases que no se queman con facilidad, y la combustión puede llevarse a cabo solo en condiciones extremas (nitrógeno, helio). - División 2.3: Gases tóxicos. Conformado por mezclas estables de gases, pero capaces de reaccionar con los compuestos orgánicos de las células produciendo la muerte (cloro, gas sulfhídrico).
---	---

Clase 3: Líquidos inflamables

	- Son líquidos, mezclas de líquidos, o líquidos conteniendo sólidos en solución o suspensión, que liberan vapores inflamables a temperaturas relativamente bajas (gasolina, hexano). - Se clasifican de acuerdo al Punto de Inflamabilidad, esto es, la temperatura más baja a la que el líquido desprende vapores en cantidad suficiente para formar una mezcla inflamable en las proximidades de su superficie (gasolina -38°C, kerosene +40°C).
---	---

Clase 4: Sólidos inflamables

	Son sustancias que pueden experimentar combustión espontánea y que, en contacto con el agua, desprenden gases inflamables. Se encienden con facilidad y, en consecuencia, representan un peligro de incendio bajo las condiciones industriales normales. • División 4.1: Sólidos inflamables, son sustancias que reaccionan espontáneamente y explosivos insensibilizados. Son sólidos que en condiciones normales de transporte son inflamables y pueden favorecer incendios por fricción (magnesio, fósforo rojo). • División 4.2: Sustancias que pueden experimentar combustión espontánea, en condiciones normales de transporte o al entrar en contacto con el aire (fósforo blanco, sólidos pirofóricos). • División 4.3: Sustancias que en contacto con el agua desprenden gases inflamables (sodio, potasio).
---	---

Clase 5: Sustancias comburentes y peróxidos orgánicos

	• División 5.1: Sustancias comburentes. Son sustancias que, aun sin ser combustibles, causan o contribuyen a la combustión al liberar oxígeno (nitrato de amonio, peróxido de hidrógeno, clorato sódico, permanganato de potasio). • División 5.2: Peróxidos orgánicos. Compuestos orgánicos con estructura bivalente O-O, térmicamente inestables, capaces de descomponerse en forma explosiva y violenta. Son sensibles al calor o a la fricción (peróxido orgánico sólido tipo B o C, peróxido orgánico líquido tipos B, C, D, E o F).
---	--

Clase 6: Sustancias tóxicas y sustancias infecciosas

	• División 6.1: Sustancias tóxicas. Son sólidos o líquidos que pueden causar la muerte, lesiones graves o pueden producir efectos perjudiciales para la salud del ser humano y los animales si se ingieren, inhalan, absorben por vía cutánea (piel o mucosas) (cianuro de potasio, cloruro de mercurio). • División 6.2: Sustancias infecciosas. Son sustancias respecto a las cuales se sabe o se cree fundadamente, a través de ensayos establecidos, que contienen agentes patógenos que causan enfermedades infecciosas en los seres humanos y animales (ántrax).
---	---

Clase 7: Sustancias radioactivas

	Se entiende por sustancias radioactivas a todas aquellas que contengan radionúclidos en los cuales tanto la concentración de actividad, como la actividad total de la remesa, excedan los valores especificados en Norma Chilena 382 del 2013 (uranio, plutonio, líquido de centelleo) [59].
--	--

Clase 8: Sustancias corrosivas

	Son sustancias ácidas o básicas, que por su acción química, causan lesiones graves a los tejidos vivos con que entran en contacto o que, si se produce un escape, pueden causar daños de consideración a otras mercancías o a los medios de transporte o, incluso, destruirlos (hidróxido de sodio, ácido sulfúrico).
---	---

Clase 9: Sustancias y objetos peligrosos varios

	Son sustancias que presentan peligro para el hombre y el medio ambiente, pero sus efectos sobre éstos no clasifican como ninguna de las clases anteriores (hielo seco, harina de pescado estabilizada, sulfato de aluminio).
---	---

Figura 5. Pictogramas de la clasificación general de las sustancias de acuerdo al riesgo más significativo que presentan en el transporte, en su manipulación y almacenamiento.

Extraído de la Norma Chilena N°382 de 2013 [59].

6.2. Almacenamiento de sustancias peligrosas

6.2.1. Reglamento de almacenamiento de sustancias peligrosas.

El almacenamiento de sustancias peligrosas está normado en Chile a través del Decreto Supremo N°43 [61]. Se establece que todas las sustancias peligrosas, de acuerdo con su cantidad, clase y división de peligrosidad, según la Norma Chilena N°382 de 2013 [59], solamente podrán almacenarse en lugares especiales señalados en el reglamento [61]. Adicionalmente, también se establece que deberán estar disponibles las Hojas de Datos de Seguridad de las sustancias almacenadas de acuerdo a Norma Chilena Oficial N°2.245 de 2015 [62].

6.2.2. Almacenamiento en pequeñas cantidades

El almacenamiento adecuado de productos químicos es tan importante para el laboratorio y la seguridad personal como el apropiado manejo de químicos. A menudo, las ideas de almacenamiento aparentemente lógicas, como la colocación de productos químicos en orden alfabético, pueden causar la acumulación de productos incompatibles.

Un sistema de almacenamiento alfabético puede colocar productos químicos incompatibles uno junto al otro, por lo cual, lo recomendable es agruparlos de acuerdo con su categoría de peligro (es decir, ácidos, bases, materiales inflamables, etc.).

La mayoría de los proveedores de productos químicos usan un sistema de clasificación de color, como una forma de ayudar al personal de laboratorio a separarlos

según su compatibilidad de almacenamiento: simplemente combinan los códigos de color para cada proveedor específico, de acuerdo a la compatibilidad de almacenamiento apropiada. Recomendamos seguir las siguientes directrices para un almacenamiento seguro de productos químicos:

- Leer etiquetas químicas y fichas de datos de seguridad (FDS [MSDS en sus siglas en inglés]) para requisitos específicos de almacenamiento.
- Almacenarlos en un área bien ventilada, sin embargo, no almacenar productos químicos en humo.
- Mantener un inventario de todos los productos químicos en el laboratorio.
- Marcar el área de almacenamiento con la etiqueta de advertencia adecuada.
- Devolver los recipientes de productos químicos a su lugar de almacenamiento adecuado después de su uso.
- Guardar los contenedores de vidrio químico de manera que no se rompan.
- Guardar todos los productos químicos peligrosos por debajo del nivel de los ojos.
- Situar los cilindros de gas comprimido a una distancia mínima de 1,5 m de la puerta.
- Evitar el almacenamiento de inflamables en un pasillo de salida o dentro de 1,5 m de la puerta.
- Evitar la mantención de productos químicos peligrosos en un área o pasillo público.

Algunos de los proveedores están utilizando ahora las declaraciones de riesgo y seguridad y los símbolos de peligro comunes, para ayudar a identificar los amenazas específicas asociadas con ciertos productos químicos. Además de las directrices anteriores, existen requisitos de almacenamiento para separar las clases de productos químicos peligrosos.

Se recomienda seguir estas directrices para asegurarse que los productos químicos peligrosos se almacenan de forma segura:

- Separar los ácidos de las bases, almacenar estos productos químicos cerca del piso, pero no en el suelo.

- Aislar el ácido perclórico de los materiales orgánicos. No almacenar el ácido perclórico en un estante de madera.
- Separar los productos químicos altamente tóxicos y carcinógenos de todos los demás productos químicos. LD₅₀ <50 mg/kg.

Esta ubicación de almacenamiento debe tener una etiqueta de advertencia y debe estar bloqueada.

- Separar los ácidos de los inflamables.
- Evitar el almacenamiento de productos químicos que formen peróxido durante más de un año.
- Impedir que el ácido pícrico se seque.
- Guardar en un refrigerador seguro para el laboratorio los productos inflamables que necesitan ser enfriados, no en un refrigerador estándar.
- Almacenar los líquidos inflamables en un armario de almacenamiento inflamable.

6.2.2.1. Prácticas estándar de seguridad en un laboratorio que trabaja con sustancias químicas.

Se recomienda tener en cuenta las siguientes precauciones:

- Evitar exposición directa a toda sustancia química presente en el laboratorio.
- Evitar contacto con la piel y mucosas, protegiendo manos, cara y ojos adecuadamente.
- Evitar la inhalación de humos o vapores químicos, usando campana de extracción/mascarillas, según particularidad del agente químico.
- Proteger los ojos de cualquier persona cuando manipule, almacene o utilice una sustancia química.
- Limitar el acceso al laboratorio al personal autorizado durante la realización de análisis o manipulación de sustancias químicas.
- Mantener el laboratorio siempre limpio y ordenado.
- Mantener y chequear todo el equipo de emergencia al menos una vez al año.
- Evitar obstruir las salidas de emergencia o el acceso a equipos de emergencia

- Asegurar que todo el personal tenga entrenamiento en los procedimientos y conozca la ubicación de los equipos de emergencia.
- Mantener anualmente un inventario de las sustancias químicas que se encuentran en el laboratorio.
- Rotular los depósitos de sustancias químicas (desechos) y contar con un programa de disposición de residuos químicos.
- Disponer de fichas de seguridad de las sustancias químicas que se utilizan en el laboratorio, en un lugar de fácil acceso y visibles para uso inmediato en caso que sea necesario.

6.2.2.2. Condiciones de almacenamiento y traslado de agentes químicos

Las sustancias químicas de alto riesgo (inflamable, reactivo, tóxico) se debieran distribuir y almacenar en un recinto aislado y bien ventilado, adecuado a los materiales que en él se mantengan, para lo cual se recomienda tener las siguientes precauciones:

- Destinar áreas especiales dentro de la bodega para los productos químicos, separando los sólidos, líquidos y gaseosos en consideración a los riesgos que presenten.
- Evitar la proximidad de los residuos inflamables a cualquier fuente de calor, si además, son volátiles, se deben almacenar en áreas bien ventiladas.
- Equipar las áreas con estanterías construidas con material sólido e incombustible.
- Contar, en caso de utilizar estantes sin puerta, con estructuras que eviten el desplazamiento de envases o botellas en situaciones de sismos.
- Almacenar en estas estanterías las sustancias químicas en sus envases unitarios originales, sellados y etiquetados.
- Incluir en el plano de seguridad del laboratorio, la ubicación de los sitios de almacenamiento de productos químicos.

Junto con lo anterior, se recomienda mantener en los laboratorios la menor cantidad de reactivos para el uso diario, almacenándolos en estantes cerrados ubicados bajo un mesón, de tal manera que permitan un fácil desplazamiento del personal y si no es posible en repisas con barandillas de contención.

Para efectuar el traslado de las sustancias químicas se debieran usar medios de transporte apropiados, como carros especialmente destinados para ello, tomando las precauciones necesarias para evitar derrames y formación de aerosoles.

6.2.3. Fichas de seguridad de sustancias peligrosas

El objetivo principal de cualquier FDS es informar al trabajador de las propiedades y señalar los peligros del producto que manipula o al que se encuentra expuesto, facilitando la adopción de las medidas de prevención pertinentes.

De acuerdo al GHS, la FDS debería proporcionar información completa sobre una sustancia o mezcla, con miras al control y reglamentación de su utilización en el lugar de trabajo. Los empresarios, administrativos y trabajadores debieran utilizarlas como fuente de información sobre riesgos, incluidos aquellos para el medio ambiente, y sobre las medidas de seguridad correspondientes. Esta información también sirve de referencia para la gestión de los productos químicos en el lugar de trabajo. Las FDS tratan sobre los productos y, por lo general, no pueden facilitar información específica que resulte pertinente a un determinado espacio laboral. Cuando los productos tengan unos usos finales especializados, la información de la FDS podría ser más concreta. La información, por tanto, permite a la institución: i) desarrollar un programa activo de medidas de protección del trabajador, incluida la formación que es específica para cada lugar de trabajo, y ii) considerar cualquier medida que pueda ser necesaria para proteger el medio ambiente. En Chile, el contenido y las secciones de la FDS está regulada por la Norma Chilena Oficial N° 2245:2015 [62]. Un ejemplo de un FDS se encuentra en el Anexo 6.

La información de las FDS debería presentarse siguiendo los 16 epígrafes en el orden indicado:

1. Identificación del producto
2. Identificación del peligro o peligros
3. Composición/Información sobre los componentes
4. Primeros auxilios (Anexo 9)
5. Medidas de lucha contra incendios

6. Medidas que deben tomarse en caso de vertido accidental
7. Manipulación y almacenamiento
8. Protección personal
9. Propiedades físicas y químicas
10. Estabilidad y reactividad
11. Información toxicológica
12. Información ecotoxicológica
13. Información relativa a la eliminación de los productos
14. Información relativa al transporte
15. Información sobre la reglamentación
16. Otras informaciones

6.3. Normas generales de trabajo con sustancias peligrosas

6.3.1. Elementos de protección personal

Los Elementos de Protección Personal (EPP) corresponden a todos aquellos dispositivos, accesorios y vestimentas de diversos diseños que utiliza el trabajador para protegerse contra posibles lesiones o accidentes. Estos constituyen uno de los elementos más básicos en cuanto a la seguridad en el laboratorio y son necesarios cuando los peligros no han podido ser eliminados por completo o controlados por otros medios.

6.3.1.1. Requisitos de los elementos de protección personal

- La calidad de los EPP está regulada por el Decreto Supremo N°18 [14].
- Proporcionar máximo confort y su peso debe ser el mínimo compatible con la eficiencia en la protección.
- No debe restringir los movimientos del trabajador.
- Tiene que ser durable y, de ser posible, el mantenimiento debe hacerse en la empresa.
- Debe ser construido de acuerdo con las normas establecidas.
- Debe tener una apariencia atractiva.

6.3.1.2. Clasificación de los elementos de protección personal

- Protección a la cabeza.
- Protección de ojos y cara.
- Protección a los oídos.
- Protección de las vías respiratorias.
- Protección de manos y brazos.
- Protección de pies y piernas.
- Ropa de trabajo.
- Ropa protectora. Se utilizaría de acuerdo a la naturaleza del trabajo y riesgos específicos:
 - Para el cuerpo: delantal, pantalones, gorro, guantes, pechera, etc.
 - Para las vías respiratorias usar mascarillas: Contra polvo: en caso de trabajar en ambientes con partículas de polvo. Contra aerosoles: necesarias para trabajar con centrífugas o agitadores de tubos. Contra productos químicos específicos: en caso de no existir buena ventilación o extracción (verificar que el filtro sea el adecuado).
 - Para la vista: lentes de policarbonato, careta facial en caso de realizar trasvasijos fuera de las campanas de extracción.
 - Para los oídos: en caso de ruidos producidos por equipos y/o campanas de extracción, que sobrepasen los 85 decibeles, se debiera utilizar protectores auditivos tipo fono.

De todos ellos, los más utilizados en el laboratorio son los protectores de piel, de ojos, de vías respiratorias, de manos y brazos. Aunque es evidente que, en ciertas circunstancias puede requerirse en un laboratorio la utilización de protecciones auditivas (en un laboratorio con riesgo de trauma sonoro) o de todo el cuerpo (en un laboratorio de seguridad biológica nivel 4). Se trata de casos especiales que no han sido tratados específicamente en esta sección.

6.3.1.2.1. Protección de cara y ojos

Los elementos destinados a la protección de la cara y los ojos permiten protegerse frente a los riesgos causados por proyecciones de partículas sólidas, proyecciones de líquidos (corrosivos, irritantes) y exposición a radiaciones ópticas (infrarrojo, ultravioleta, láser). Ellos pueden clasificarse en dos grandes grupos: pantallas y lentes.

Pantallas: las pantallas cubren la cara del usuario, no solamente los ojos (Figura 6). Aunque existen, en orden a sus características intrínsecas, dos tipos de pantallas, (faciales y de soldadores), en los laboratorios normalmente sólo son necesarias las pantallas faciales, que pueden ser con visores de plástico, con tejidos aluminizantes o reflectantes o de malla metálica. Si su uso está destinado a la protección frente a algún tipo de radiaciones, deberían estar equipadas con visores filtrantes a las mismas.



Figura 6. Pantalla

Lentes: tienen el objetivo de proteger los ojos del trabajador (Figura 7). Para que resulten eficaces, requieren combinar junto con unos oculares de resistencia adecuada, un diseño o montura, o bien elementos adicionales adaptables a ella, con el fin de proteger el ojo en cualquier dirección. Se utilizan oculares filtrantes en todas aquellas operaciones en las que haya riesgo de exposición a radiaciones ópticas como ultravioleta, infrarrojo o láser. Considerando el tipo de montura se pueden agrupar en:

- Lentes tipo universal. Pueden ir provistas, aunque no necesariamente, de protección adicional.

- Lentes tipo copa o cazoleta. Encierran cada ojo aisladamente. Están constituidas por dos piezas, integrando el aro portaocular y la protección lateral. También puede ser adaptables al rostro con un único ocular.
- Lentes integrales. La protección adicional está incluida en la misma montura. Pueden ser utilizadas conjuntamente con lentes graduadas.

En determinados casos, en que vayan a ser utilizadas de forma continuada por una persona que necesita lentes graduadas, pueden confeccionarse lentes de seguridad con estas características. Téngase en cuenta que la obligación de llevar lentes de modo permanente es bastante habitual en los laboratorios.

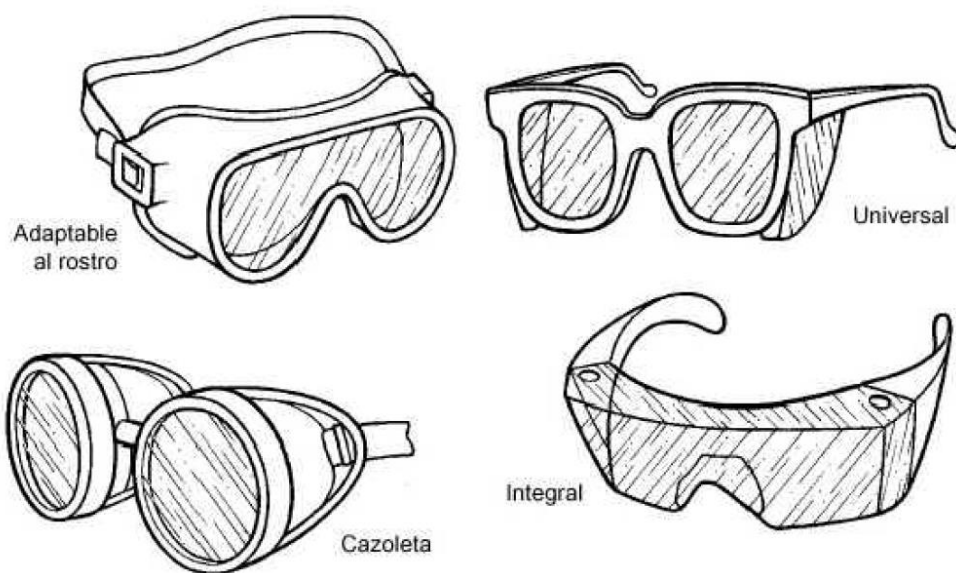


Figura 7. Tipos de lentes.

6.3.1.2.2. Protección de la piel (manos)

El objetivo de estos insumos es impedir el contacto y penetración de sustancias tóxicas, corrosivas o irritantes a través de la piel, especialmente a través de las manos que es la parte del cuerpo con mayor probabilidad de entrar en contacto con los productos químicos. Sin embargo, no debiera despreciarse el riesgo de impregnación de la vestimenta, que se puede prevenir empleando delantales, mandiles y, en general, ropa de trabajo o protección adecuada a las características de peligrosidad del agente

químico manipulado. En caso de contacto con el producto, debiera procederse al lavado inmediato de la protección y si se ha impregnado la ropa de trabajo, quitársela inmediatamente y proceder a su lavado.

Ante la posibilidad de contacto dérmico, la utilización de los guantes (ver figura 8), es en muchas ocasiones el sistema de prevención más utilizado. Su uso, a diferencia de las protecciones respiratorias e igual que ocurre con las gafas, no supone fatiga ni especial incomodidad, aunque esto último depende de las operaciones manuales que se realicen. Esta situación, junto al hecho de que a menudo sea la única solución razonable para la prevención del riesgo, hace que haya una mayor tendencia a su utilización sin límite de tiempo.



Figura 8. Guantes.

Los guantes de seguridad se fabrican en diferentes materiales (PVC, PVA, nitrilo, látex, neopreno, etc.) en función del riesgo que se pretende proteger. Para su uso en el laboratorio, además de la necesaria resistencia mecánica a la tracción y a la perforación, es fundamental la impermeabilidad frente a los distintos productos químicos. Téngase en cuenta que la utilización de guantes no impermeables frente a un producto (si hay inmersión o contacto directo importante) no solamente no protege, sino que incrementa el riesgo. Por estos motivos a la hora de elegir un guante de seguridad es necesario conocer su idoneidad en función de los productos químicos utilizados, mediante el correspondiente certificado de homologación que debiera ser facilitado por

el suministrador. A modo de ejemplo en la tabla 10 se indican algunos tipos de guantes y su resistencia frente a determinados productos químicos.

Tabla 10. Resistencia química de guantes.

Compuesto Químico	Composición de los guantes					
	Caucho natural o Látex	Neopreno	Buna-n (nitrilo)	Butilo	PVC	PVA
Ácidos Inorgánicos						
Ácido crómico	M	R	R	B	B	M
Ácido clorhídrico 38%	B	E	B	B	E	M
Ácido fluorhídrico 48%	B	E	B	B	B	M
Ácido fosfórico	B	E	B	B	B	M
Ácido nítrico 70%	M	B	I	B	R	M
Ácido nítrico fumante (humos rojos)	NC	I	I	NC	I	M
Ácido nítrico fumante (humos amarillos)	NC	I	I	NC	I	M
Ácido sulfúrico 95%	E	E	R	B	R	M
Ácidos orgánicos						
Ácido acético	E	E	B	B	B	M
Ácido fórmico	E	E	R	B	E	I

E=excelente; B=bueno; R=regular; I=Inferior; M=malo; NC=no comprobado.

La certificación de un guante de protección exige unos mínimos de resistencia a la tracción y a la perforación que garantice la integridad del mismo en situaciones normales de trabajo. Los clasifica según los productos o familias de compuestos contra los que protege. Otros aspectos que han de considerarse en la elección de los guantes son la longitud del manguito (zona que forma el guante desde el borde superior hasta la muñeca) y el forro o revestimiento. En la elección debiera prevalecer, a igualdad de características protectoras, la comodidad.

La disminución en el sentido del tacto que ocasiona el uso de los guantes es una dificultad para la realización de algunos trabajos. En estos casos, y si está justificado, debiera optarse por la utilización de guantes de menor espesor, aunque no sean los más adecuados para el contaminante presente, observando la precaución de aumentar la frecuencia de cambio de los mismos. En otras circunstancias puede recomendarse la utilización de un doble guante si se juzga insuficiente la protección ofrecida por uno

solo. Estas situaciones ocurren a menudo con la utilización de guantes de látex, generalizada en gran número de laboratorios.

6.3.1.2.3. Protección de las vías respiratorias

Los elementos de protección individual de las vías respiratorias son aquellos que tratan de impedir que el contaminante penetre en el organismo a través de esta vía. Técnicamente se pueden clasificar en elementos de protecciones dependientes e independientes del medio ambiente.

6.3.1.2.3.1. Equipos dependientes del medio ambiente

Son elementos de protección que utilizan el aire del ambiente y lo purifican, es decir, retienen o transforman los contaminantes presentes en él para que sea respirable. Estos equipos no pueden utilizarse cuando el aire es deficiente en oxígeno, cuando las concentraciones de contaminante son muy elevadas o se trata de sustancias altamente tóxicas o cuando existe el peligro de no detectar su mal funcionamiento (por ejemplo, un gas sin olor como el monóxido de carbono).

Ellos presentan dos partes claramente diferenciadas: el adaptador facial y el filtro. El adaptador facial tiene la misión de crear un espacio herméticamente cerrado alrededor de las vías respiratorias, de manera que el único acceso a ellas sea a través del filtro. Existen tres tipos: la máscara, la mascarilla y la boquilla (Figura 9).

- **Máscara.** Cubre la boca, la nariz y los ojos. Debiera utilizarse cuando el contaminante es un irritante, para evitar su efecto sobre la mucosa ocular o en cualquier caso cuando pueda penetrar a través de ella.
- **Mascarilla.** Cubre la nariz y la boca exclusivamente.
- **Boquilla.** Ofrece una conexión entre la boca y el filtro y dispone de un sistema que impide la entrada de aire no filtrado por la nariz (pinza). Su utilización se limita exclusivamente a situaciones de emergencia.

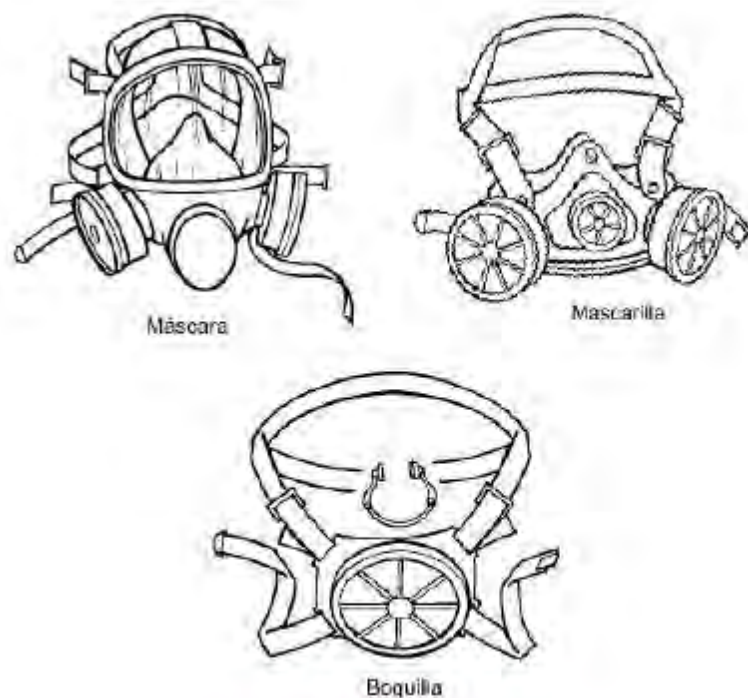


Figura 9. Adaptadores faciales

Los adaptadores debieran tener, entre otras, las siguientes propiedades: máxima hermeticidad, mínima resistencia al paso del aire, máxima visibilidad en las máscaras y máximo confort de utilización.

Los filtros tienen la misión de purificar el aire y eliminar la contaminación. Se clasifican en tres clases: mecánicos, químicos y mixtos.

- Los filtros mecánicos retienen el contaminante, impidiendo el paso por mecanismos físicos. Se utilizan para polvo, humo o aerosoles.
- Los filtros químicos realizan su misión filtrante disponiendo en su interior de alguna sustancia química que retiene el contaminante, absorbiéndolo, o reaccionando con él. Los filtros químicos son específicos para una sustancia o grupo de sustancias de parecidas características químicas.
- Los filtros mixtos realizan combinadamente la acción de los filtros mecánicos y de los químicos.

Considerando la resistencia al paso del aire y la permeabilidad al contaminante, los filtros se clasifican en varias categorías. La resistencia al paso del aire se mide como la pérdida de carga, de manera que cuanta más pequeña es, más cómoda resulta la utilización del filtro. La permeabilidad al contaminante se denomina también penetración, que es la concentración del contaminante que es capaz de atravesar el filtro. La clasificación otorga la mejor categoría o clase a los filtros cuya pérdida de carga y penetración es menor.

Otra característica de los filtros es su «vida media», que es el tiempo que tarda un filtro en alcanzar la máxima penetración admisible para una concentración conocida. Es un valor de referencia, aunque poco útil en la práctica, donde no se suele conocer la concentración del contaminante en aire.

La **maskarilla autofiltrante** (Figura 10) es un tipo especial de protector respiratorio que reúne en un solo cuerpo inseparable el adaptador facial y el filtro. No son adecuadas para la protección de gases o vapores. Debido a su bajo peso y poca pérdida de carga las hace más cómodas que las maskarillas convencionales.



Figura 10. Maskarilla autofiltrante.

6.3.1.2.3.2. Equipos independientes del medio ambiente (Equipos de Respiración Autónoma)

Estos equipos de protección se caracterizan porque el aire que respira el usuario no es el del ambiente de trabajo y se clasifican en: semiautónomos y autónomos.

Los **equipos semiautónomos** utilizan el aire de otro ambiente diferente al de trabajo, no contaminado y transportado a través de una canalización (manguera) o proveniente de recipientes a presión no portátiles. Disponen de un adaptador facial, generalmente tipo máscara, y una manguera. El aire puede ser aspirado a voluntad a través de la manguera o suministrado a presión mediante un compresor o botellas de aire comprimido. Estos equipos se utilizan en trabajos con muy altas concentraciones de contaminante o pobres en oxígeno.

Los **equipos autónomos** son aquellos en los que el sistema de aporte de aire es transportado por el usuario. Su utilización está indicada en los casos en que el aire es irrespirable y se requiere autonomía y libertad de movimientos.

El uso de estos equipos de protección en el laboratorio no es habitual, excepto en casos muy especiales, como el trabajo en laboratorios con riesgo biológico nivel 4 o en ambientes con contaminación radioactiva importante. Sin embargo, la presencia de equipos autónomos para emergencias y operaciones de salvamento sí que suele ser habitual en el laboratorio (Figura 11).



Figura 11. Equipo de autosalvamento.

6.3.2. Manejo de residuos peligrosos

La disposición adecuada de residuos es esencial para controlar y minimizar los riesgos desde los lugares de generación, favoreciendo el cuidado de la salud y seguridad de los trabajadores, de la comunidad circundante y del medio ambiente. Es necesario que el laboratorio disponga de procedimientos documentados que describan las actividades relacionadas con su manejo, incluyendo la segregación, el almacenamiento, el transporte y la eliminación, en concordancia con las disposiciones locales y cumpliendo con la reglamentación vigente. Actualmente existe dos decretos relacionados con el manejo de residuos peligrosos, que son el Decreto Supremo N°6 de 2009 (o REAS) [15] y el Decreto Supremo N°148 “*Reglamento Sanitario de Manejo de Residuos Peligrosos*” [16].

6.3.2.1. Categorías de residuos peligrosos

Según lo estipulado en el Decreto Supremo N°6 de 2009 “*Reglamento sobre Manejo de Residuos de Establecimientos de Atención de la Salud (REAS)*” [15] del Ministerio de Salud y para efectos de la identificación de los residuos generados en establecimientos de atención de la salud, se considerarán las siguientes categorías respecto residuos químicos:

6.3.2.1.1. Residuos peligrosos (Categoría 1)

Son aquellos que presentan una o más características de peligrosidad definidas en el Decreto Supremo N°148 de 2003, del Ministerio de Salud, que aprueba el Reglamento Sanitario sobre Manejo de Residuos Peligrosos [16]. Según la normativa vigente, los residuos químicos más peligrosos pertenecen a la Categoría 1: Residuos peligrosos. Estos son residuos que presentan peligro para la salud pública y/o el medio ambiente a consecuencia de presentar características tales como toxicidad aguda, toxicidad crónica, toxicidad extrínseca, inflamabilidad, reactividad y corrosividad.

6.3.2.1.2. Residuos radiactivos de baja intensidad (Categoría 2)

Son aquellos que contienen o están contaminados por sustancias radioactivas. Ver más detalles en desechos radiactivos Sección 7.7.3.

6.3.2.1.3. Residuos Especiales (Categoría 3)

Son aquellos residuos sospechosos de contener agentes patógenos en concentración o cantidad suficiente para causar enfermedad a un huésped susceptible. Ver más detalles en “Manejo de desechos biológicos” Sección 5.2.5.

6.3.2.1.4. Residuos sólidos asimilables a domiciliarios (Categoría 4):

Son aquellos residuos que, por sus características físicas, químicas y microbiológicas, pueden ser entregados a la recolección municipal, y pueden ser dispuestos en un relleno sanitario, ya que no representan un riesgo adicional para la salud. Se incluyen en esta categoría: material de limpieza de pasillo, papeles y materiales de oficina, materiales absorbentes tales como gasa, algodones o papel absorbente no saturados con sangre o sus derivados. Adicionalmente, se consideran los residuos especiales que han sido sometidos a tratamiento de descontaminación dentro del laboratorio que los genera.

6.3.2.2. Manejo de residuos químicos

En esta categoría se considera todo material químico, sus residuos y todos los materiales no reutilizables que estuvieron en contacto con sustancias químicas.

6.3.2.2.1. Clasificación de los residuos químicos

Es recomendable que el personal clasifique los residuos químicos que se generan en las diferentes áreas de trabajo para su adecuada manipulación, almacenamiento y disposición dentro del laboratorio y en las zonas de acopio, así como su eliminación final.

Este tipo de residuos pueden clasificarse de acuerdo a las características de peligrosidad que se indican en la Tabla 11.

Tabla 11. Clasificación según las características de peligrosidad de los residuos químicos.

Tipo de Residuos Químico	Compuesto Químico
Residuos Inflamables	Orgánicos no halogenados Orgánicos no halogenados aromáticos y fenoles Líquidos orgánicos con metales pesados Sólidos orgánicos
Residuos Corrosivos	Ácidos sin sulfuros, cianuros y metales pesados Ácidos orgánicos Bases sin sulfuros, cianuros y metales pesados Bases orgánicas
Residuos tóxicos	Orgánicos halogenados Líquidos inorgánicos con metales Ácidos con metales pesados Bases con metales pesados
Residuos Reactivos	Sólidos inorgánicos Ácidos con sulfuros y cianuros Bases con sulfuros y cianuros

Si los residuos no presentan alguna de estas características ni se encuentran incluidos en la Tabla de Incompatibilidades Químicas (Anexo 7), es considerado como Residuo No Peligroso y puede ser evacuado en el alcantarillado, salvo las siguientes excepciones:

- Residuos que contengan sólidos precipitables > 7.0 mg/L.
- Residuos que contengan grasas o aceites en concentraciones > 100 mg/L.
- Residuos que contengan metales o cianuro en concentraciones > 100 mg/L.
- Residuos insolubles en agua.

Si se desconoce su composición, ante la duda es conveniente clasificarlo como residuo peligroso, informando esta condición en el rótulo que identifique al contenedor de residuos químicos. Un residuo peligroso no puede ser diluido para cumplir con el criterio de no peligroso.

6.3.2.2.2. Almacenamiento transitorio de residuos químicos en el laboratorio

Es altamente recomendable que en el laboratorio se establezca y demarque con una línea roja, una “zona de residuos químicos en tránsito” acorde a la cantidad de residuos generados, la cual debiera cumplir con las siguientes características:

- No encontrarse en áreas de tránsito o vías de evacuación.
- Ser de fácil limpieza.
- Con adecuada ventilación (libre de humedad excesiva).
- Ser de superficie lisa.
- No colocar un contenedor sobre otro.

Los residuos debieran ser almacenados en contenedores de acuerdo a las recomendaciones que se detallan a continuación y marcados con la etiqueta correspondiente según los criterios explicados en la Tabla 11:

- Residuos líquidos: en envases plásticos de 2,5 o 10 litros de capacidad no excediendo los 30 Kg en peso, por seguridad al momento de transportarlo.
- Residuos sólidos: en envases boca ancha de 4,8 a 20 Kg. de capacidad y que no exceda los 30 Kg en peso.

6.3.2.2.3. Retiro y disposición final de residuos químicos

Se debiera establecer los horarios más adecuados para el traslado de residuos químicos a la zona de acopio institucional, instruyendo y supervisando al personal responsable de la actividad en el cumplimiento de las buenas prácticas necesarias.

El traslado de residuos químicos debiera hacerse en aquellos contenedores que hayan alcanzado un 3/4 de su capacidad. Los productos a eliminar debieran ser colocados en contenedores impermeables protegidos contra golpes y no exceder un peso de 30 Kg. Se debiera incluir en este manejo, los productos químicos y sus envases aun cuando se han utilizado completamente.

El traslado a la zona de acopio institucional debiera ser realizado por personal asignado por el laboratorio, provisto de los equipos de protección personal (EPP) y medio de transporte adecuado (guantes resistentes a químicos). La jefatura del laboratorio en coordinación con el Prevencionista de Riesgo o el encargado de

bioseguridad debieran definir la necesidad de uso de otros EPP o instrumentos necesarios para el transporte los que dependerán del tipo de sustancia que se manipula.

Es altamente recomendable mantener registro de la cantidad y tipo de residuos especiales entregados a la sala de acopio institucional para la disposición final.

6.3.2.2.4. Manipulación y transporte de residuos químicos

La manipulación de los desechos químicos debiera llevarse a cabo por personal capacitado para ello y provistos de equipos de protección personal adecuados. Para ello pueden utilizarse antiparras, guantes, respirador, ropa protectora de acuerdo al tipo de agente químico que se manipule. Se debiera contar con los equipos de seguridad adecuada y conocer su uso correcto.

Es importante identificar los residuos químicos que genera el laboratorio, conocer sus riesgos y contar con información específica sobre su tratamiento y eliminación.

Es necesario realizar las operaciones para eliminar las sustancias que desprenden vapores o gases irritantes o tóxicos, solo bajo campana de seguridad química.

No eliminar directamente al desagüe, sin tratamiento previo ya que además del riesgo ambiental que implica, las cañerías pueden dañarse.

Almacenar los residuos en lugares o sectores especialmente destinados para ello, evitar la acumulación innecesaria.

Se hace especial énfasis en el manejo de residuos de laboratorio conteniendo mercurio, posibles de encontrar en lámparas de microscopios y termómetros, los cuales debieran ser incluidos en los procedimientos de eliminación de residuos tóxicos.

6.3.3. Límites Permisibles

Los efectos causados por la exposición a agentes químicos a corto o largo plazo en los ambientes de trabajo se tienen en cuenta en el establecimiento de límites de exposición ocupacional (LEO). Los criterios para la determinación de los LEO varían de una institución a otra, y sólo algunos de ellos tienen valor legal en sus países. Como la mayoría de los LEO se actualizan periódicamente, siempre hay que buscar las referencias más actuales en su consulta. La tendencia general es que los valores mantienen cada vez más pequeño, porque

la ciencia va a revelar efectos nocivos de las sustancias en concentraciones cada vez más bajas.

Los límites de ACGIH [63], que no tienen valor legal en los EE.UU., se llaman valores límite umbral (TLV) o límites de frontera. Se definen como ***"las concentraciones de sustancias químicas en el aire, a las cuales se cree, la mayoría de los trabajadores pueden estar expuestos repetidamente, día tras día durante una vida de trabajo sin sufrir efectos adversos para la salud"***.

La ACGIH establece que los valores no son líneas divisorias entre las condiciones seguras y peligrosas, y advierte de que los trabajadores pueden estar sometidos a exposición dérmica. Hay tres tipos: los límites de los límites de tiempo promedio ponderado (TWA) o promedio ponderado en el tiempo, el límite de exposición a corto plazo (STEL) o la exposición a corto plazo, y el techo (valor techo) [63].

El límite de promedio ponderado en el tiempo (TWA) es la concentración media de los valores encontrados a lo largo de la jornada de trabajo (8 horas diarias, 40 horas a la semana) y generalmente varía dependiendo de numerosas variables ambientales y de los ciclos de producción. El límite de exposición de 15 minutos promedio ponderado (TLV-STEL) no debería ocurrir más de cuatro veces al día y es complementario al TLV-TWA. El límite de exposición de techo es la concentración máxima que no debe ser excedida en ningún momento de la exposición en el trabajo. Por lo general se establece en sustancia irritantes y su definición es la misma que la legislación de valor techo brasileira. Los valores de exposición a corto plazo son importantes para las sustancias irritantes, cáusticas y asfixiantes.

Los LEO se establecen para las concentraciones de gases y vapores o partículas en la atmósfera del ambiente de trabajo. Las unidades utilizadas son partes por millón (ppm) en volumen - ppm (v/v), sólo válidas para gases y vapores. La relación entre la masa de material en partículas, el volumen de gas o vapor y aire se expresa en mg/m^3 .

Varias organizaciones y gobiernos de otros países especialmente de Europa y Estados Unidos también establecen estos parámetros para una exposición "segura", y las fichas toxicológicas, suelen traer los valores de la ACGIH y OSHA (entidad vinculada al Departamento de Trabajo del gobierno de EE.UU.). En Chile, las Hojas de Seguridad pueden

poner estos valores en caso de no tener valores en el Decreto Supremo N°594 [64].

La ACGIH advierte que *"los TLV no son una delgada línea que separa un lugar de trabajo sano y saludable, o un punto en el que habrá un peligro para la salud"*. Los TLV no protegen adecuadamente a todos los trabajadores. Algunas personas pueden experimentar molestias o efectos adversos más graves en la salud cuando son expuestos a productos químicos en concentraciones iguales o incluso por debajo de los límites de exposición. La ACGIH también da a conocer, por cada sustancia, las publicaciones complementarias al libro de TLV, y estudios técnicos que justifican los valores establecidos.

En Chile, los Límites Permisibles se establecen en el Decreto N°594 de 2000, del Ministerio de Salud (Artículo 59 y Tabla Artículo 66) [64] y son similares a los de Estados Unidos aunque algunos valores difieren.

Para los efectos de este Manual se entenderá por:

- a) **Límite Permisible Ponderado:** Valor máximo permitido para el promedio ponderado de las concentraciones ambientales de contaminantes químicos existente en los lugares de trabajo durante la jornada normal de 8 horas diarias, con un total de 48 horas semanales.
- b) **Límite Permisible Temporal:** Valor máximo permitido para el promedio ponderado de las concentraciones ambientales de contaminantes químicos en los lugares de trabajo, medidas en un período de 15 minutos continuos dentro de la jornada de trabajo. Este límite no podrá ser excedido en ningún momento de la jornada.
- c) **Límite Permisible Absoluto:** Valor máximo permitido para las concentraciones ambientales de contaminantes químicos medida en cualquier momento de la jornada de trabajo.

7. SUSTANCIAS RADIATIVAS Y RADIACIONES IONIZANTES

7.1. Introducción

El aumento en el uso de las radiaciones ionizantes en los diferentes laboratorios docentes y de investigación, así como las diversas técnicas en las que se aplica el uso de radionúclidos, obligan a integrar dentro de la seguridad de los laboratorios el uso y manejo de las radiaciones ionizantes [65].

La protección radiológica enfocada al trabajo con radiaciones ionizantes, nace con el objetivo principal de organizar, asesorar y controlar el funcionamiento de las diferentes aplicaciones en los laboratorios de investigación. De esta manera, se debiera “garantizar que toda práctica que conlleve exposición a las radiaciones ionizantes se realice con la mayor seguridad y protección, de forma tal que se minimice al máximo posible, la exposición y el riesgo de daño a los trabajadores, al público y al medio ambiente” [66].

7.2. Objetivo

Establecer las bases de actuación referidas al uso y manejo de radionúclidos, instalaciones y utilización de radiaciones ionizantes con fines experimentales, de investigación y diagnóstico, contempladas en las recomendaciones internacionales, así como en la normativa nacional.

7.3. Aplicación

Las instituciones que albergan proyectos de investigación ligadas al uso de radiaciones ionizantes, en donde deban controlar el buen manejo de estos elementos, debieran adoptar disposiciones para su manejo seguro y diseñar protocolos internos de uso que complementen las dadas en la normativa nacional vigente, así como en las recomendaciones internacionales.

Cada instalación, debiera desarrollar a través de su CIB, su propio Manual de Procedimientos, en el que se detallarán los métodos de trabajo y reglas de manipulación

que garanticen la operación segura de la instalación. Dicho Manual, debiera estar disponible para todos los trabajadores relacionados con actividades que impliquen riesgo radiológico.

Todas las personas que trabajen en una instalación radiactiva deben estar formadas y capacitadas para ello. Aquellas, que en virtud de su trabajo manipulen material o equipos radiactivos, deben estar provistas de la correspondiente autorización u/o licencia dependiendo de las funciones que realice y en el caso de ser una instalación radiactiva, con la correspondiente licencia otorgada por la autoridad competente (Decreto Supremo N°133 de 1984, del Ministerio de Salud, Reglamento sobre autorizaciones para instalaciones radiactivas o equipos generadores de radiaciones ionizantes, personal que se desempeñe en ellas, u opere tales equipos y otras actividades afines) [67].

7.4. Organización y responsabilidades

7.4.1. Titular y responsable de instalación radiactiva

La institución debiera nombrar un responsable titular, quien es el máximo responsable de la aplicación de los **principios de protección radiológica** y en el ejercicio de su función debiera:

- Garantizar el cumplimiento de las normativas establecidas en este Manual, así como de dar cumplimiento a las disposiciones legales vigentes en el país.
- Asegurar que se imparta una inducción al trabajo asociado con radiaciones ionizantes previa al trabajo en la instalación determinada.
- Comunicar a la autoridad competente (definir categorías y autoridad vigente) ante cualquier situación, accidente o incidente que reduzca la seguridad de los usuarios en materia de protección radiológica.
- Tomar medidas oportunas en caso de incumplimiento de las normativas establecidas y vigentes, tanto nacionales, como las entregadas en este Manual.
- Mantener los protocolos relacionados con la actividad, vigentes y de acceso oportuno, en caso de ser utilizados.

- Detener, en cualquier momento, el proceso de trabajo que se está realizando, si se estima que se ha reducido las condiciones de seguridad, comunicándose inmediatamente a la autoridad responsable o CIB, según corresponda. Para reanudar la actividad debiera tener constancia explícita de que se han restablecido dichas condiciones de seguridad radiológica.
- Llevar registro de las operaciones que se han realizado, identificación las personas y material o equipo con el cual se ha trabajado, responsabilizando a la persona que ha realizado la operación.
- Verificar y controlar los desechos emitidos durante el trabajo, documentado cómo se realiza y que las actividades de los radionúclidos ya sean exentas (explicar gestión de desechos, decaimiento, tabla, normativa).
- Controlar que en los laboratorios se trabaja con los radionúclidos informados, así como con las actividades autorizadas para su uso. Asimismo, debiera velar por el correcto funcionamiento de la instalación, personal y **elementos de protección radiológica**.
- Controlar y mantener un inventario actualizado de equipos y fuentes radiológicas.
- Gestionar desechos radioactivos.

7.4.2. Usuarios de material radiactivo

Toda persona que utilice material radiactivo en una instalación debiera estar autorizada para tal efecto (normativa y autorizaciones), tras recibir formación y entrenamiento para su uso seguro.

Entre las funciones y responsabilidades de los usuarios, están:

- Conocer y cumplir con las normas de protección radiológica, así como su actuación y comunicación en caso de algún incidente o emergencia.
- Colaborar, en el ámbito del trabajo con radiaciones ionizantes, con el resto de las áreas de prevención de riesgos y apoyar en la identificación y evaluación de los riesgos derivados del uso de radiaciones ionizantes, así como en la gestión de sus residuos.

7.5. Medidas fundamentales de protección radiológica

Para garantizar un correcto funcionamiento de la unidad de trabajo en términos radiológicos, se debiera tomar las medidas necesarias para conseguir que las dosis individuales, el número de personas expuestas y la probabilidad de que se produzcan exposiciones potenciales, sean lo más bajas posibles (ALARA).

En cualquier caso, las dosis recibidas por los trabajadores expuestos y los miembros del público siempre han de ser inferiores a los límites de dosis establecidos en la legislación (Decreto Supremo N°3 de 1984, del Ministerio de Salud, Reglamento de Protección Radiológica de Instalaciones Radiactivas) [68].

En Chile, los límites de dosis anuales vigentes para trabajadores ocupacionalmente expuestos son (artículo 12) [68]:

Cuerpo entero, gónadas, médula ósea	5 rem (50 mSv) año
Cristalino	30 rem (300 mSv) año
Cualquier otro órgano en forma individual.....	50 rem (500 mSv) año

Sin embargo, estos valores se encuentran en revisión a la fecha por las autoridades competentes (Ministerio de Salud y Comisión Chilena de Energía Nuclear) debido principalmente a que son las recomendaciones basadas en la publicación de la Comisión Internacional de Protección Radiológica (ICRP) N°26 de 1977 [69] y luego éste mismo organismo en el ICRP N°60 de 1990 [70] ya estableció valores más restrictivos, los que fueron ratificados luego en la publicación ICRP N° 103 de 2007 [66] y que corresponden a:

Cuerpo entero	20 mSv/año (promedio en 5 años)
Cristalino.....	150 mSv
Piel.....	500 mSv
Manos y pies.....	500 mSv

Sin embargo, un aspecto relevante que demuestra lo dinámico del establecimiento de nuevos valores recomendados de dosis en esta área, es el hecho que ya en el año

2014 el ICRP actualizó nuevamente el valor de dosis recomendado para cristalino, a sólo 20 mSv/año, basado en las últimas investigaciones recopiladas por el Comité de las Naciones Unidas para el Estudio de los Efectos Biológicos de las Radiaciones Atómicas (UNSCEAR), que demostraron un aumento exponencial de cataratas en los médicos intervencionistas.

El riesgo radiológico producido por trabajo, uso o aplicación de equipos o materiales radiactivos, puede reflejarse de dos formas:

- Irradiación externa (uso de fuentes selladas y equipos generadores de radiaciones ionizantes como rayos X y aceleradores de partículas).
- Contaminación radiactiva, que puede ser interna o externa (uso de fuentes no selladas o abiertas usadas de preferencia en marcación de moléculas y en medicina nuclear).



Figura 12. Protección radiológica.

7.6. Principios de la protección contra las radiaciones ionizantes

Para limitar los efectos nocivos de las radiaciones ionizantes, el uso de radionúclidos debe ser controlado y cumplir las normas nacionales aplicables [68]. La protección contra las radiaciones debe seguir cuatro principios:

1. Reducir al mínimo el tiempo de exposición a la radiación.

2. Aumentar al máximo la distancia de la fuente de radiación.
3. Proteger la fuente de radiación.
4. Sustituir el uso de radionúclidos por técnicas no radiométricas.

7.6.1. Tiempo

El factor tiempo está relacionado con que las dosis de radiación son directamente proporcionales al tiempo de exposición, por lo tanto, mientras más se reduzca el tiempo de exposición, las personas estarán más protegidas. Por esta razón, la capacitación y el entrenamiento en una determinada práctica son muy importantes para disminuir los tiempos de exposición.

El tiempo de exposición durante las manipulaciones de material radioactivo puede reducirse de las siguientes formas:

- Practicando las técnicas que se encuentren poco familiarizadas por el usuario, sin utilizar el radionúclido hasta que se domine los principios y detalles de esas técnicas.
- Trabajando con los radionúclidos de forma concienzuda y oportuna, sin prisas.
- Velando por que todas las fuentes radioactivas se devuelvan a su lugar de almacenamiento inmediatamente después de usarlas.
- Retirando los residuos radioactivos del laboratorio a intervalos frecuentes.
- Pasando el menor tiempo posible en la zona de radiaciones del laboratorio.
- Gestionando y planificando con eficiencia el tiempo de manipulación de material radioactivo en el laboratorio.

7.6.2. Distancia

La intensidad de la dosis de la mayor parte de las radiaciones (rayos X, radiación gamma) es inversamente proporcional al cuadrado de la distancia a la fuente, vale decir, si se duplica la distancia a la fuente de radiación, la exposición queda reducida a la cuarta parte en el mismo periodo de tiempo. Se utilizan diversos dispositivos y aparatos auxiliares para aumentar la distancia entre el trabajador y la fuente de radiación, como pinzas largas, abrazaderas y pipeteadores a distancia. Tenga en consideración que un

pequeño aumento de la distancia puede dar lugar a una disminución considerable de la intensidad de la dosis.

7.6.3. Blindaje

Los blindajes que absorben o atenúan la radiación, situados entre la fuente y el trabajador u otros ocupantes del laboratorio, ayudarán a limitar su exposición. El tipo y el grosor de cualquier material de blindaje dependen de la capacidad de penetración (tipo y energía) de la radiación. Una barrera de 1,3–1,5 cm de material acrílico, madera, cobre o aluminio protege contra partículas Beta de alta energía, mientras que para proteger contra las radiaciones Gamma y X de alta energía se necesita plomo de alta densidad. En el caso particular de la radiación electromagnética, sean rayos X o radiación gamma se aplica la llamada Ley de Atenuación que considera la intensidad de la radiación antes del blindaje (I_0), el coeficiente de atenuación lineal del material usado como blindaje y de la energía de la radiación que sigue una relación exponencial (u) y la intensidad después del blindaje (I) de esta manera se calcula el espesor (x) necesario de dicho material para obtener la intensidad de radiación deseada siguiendo la expresión:

$$I = I_0 \cdot e^{-ux}$$

Otro concepto aplicable especialmente con rayos x es el de espesor hemirreductor o HVL, que corresponde al espesor necesario de blindaje que permite reducir el nivel de radiación al 50%. Algunos ejemplos de HVL se presentan en la tabla 12.

Tabla 12. Espesor necesario de blindaje que permite reducir la radiación al 50%.

Radionúclido	HVL (cm) Plomo	HVL (cm) Fierro
Cesio 137	0,65	1,6
Cobalto 60	1,10	2,0
Iridio 192	0,55	1,3
Tecnecio 99m	0,02	0,05
Iodo 131	0,72	4,7

Rx 100 kVp	0,026	1,65
------------	-------	------

Además de utilizar estos principios de protección radiológica, se debiera contar con los elementos de protección personal adecuados a la práctica que se va a realizar. Se describen algunos ejemplos en la figura 13.



Figura 13. Elementos de protección radiológica.

7.6.4. Sustitución

Los materiales basados en radionúclidos no debieran utilizarse si hay otras técnicas disponibles. Si no es posible la sustitución, se sugiere utilizar el radionúclido que tenga el menor poder de penetración o la menor energía.

7.7. Sistemas seguros de trabajo con radionúclidos

Las normas relativas al trabajo con sustancias radiactivas debieran tener en cuenta cuatro zonas:

1. Zona de radiaciones.
2. Zona de mesas de trabajo.
3. Zona de desechos radiactivos.
4. Registros y respuesta a las emergencias.

Entre las normas generales más importantes para trabajar con radionúclidos figuran las siguientes:

7.7.1. Zona de radiaciones

Las zonas de radiaciones debieran seguir los siguientes preceptos:

- Sólo utilizar sustancias radiactivas en zonas exclusivamente destinadas a ello.
- Sólo se permitirá la presencia del personal indispensable.
- Se utilizará equipo de protección personal: batas de laboratorio, gafas de seguridad y guantes desechables.
- Se vigilarán las exposiciones del personal a las radiaciones.

Los laboratorios en los que se utilizan radionúclidos debieran diseñarse de modo que se simplifiquen las operaciones de contención, limpieza y descontaminación. La zona de trabajo con radionúclidos debe situarse en una pequeña sala adyacente al laboratorio principal o en una zona exclusiva dentro del laboratorio, separada de otras actividades.

La entrada a la zona de radiaciones se demarcará con el símbolo internacional de radiación (Figura 14):



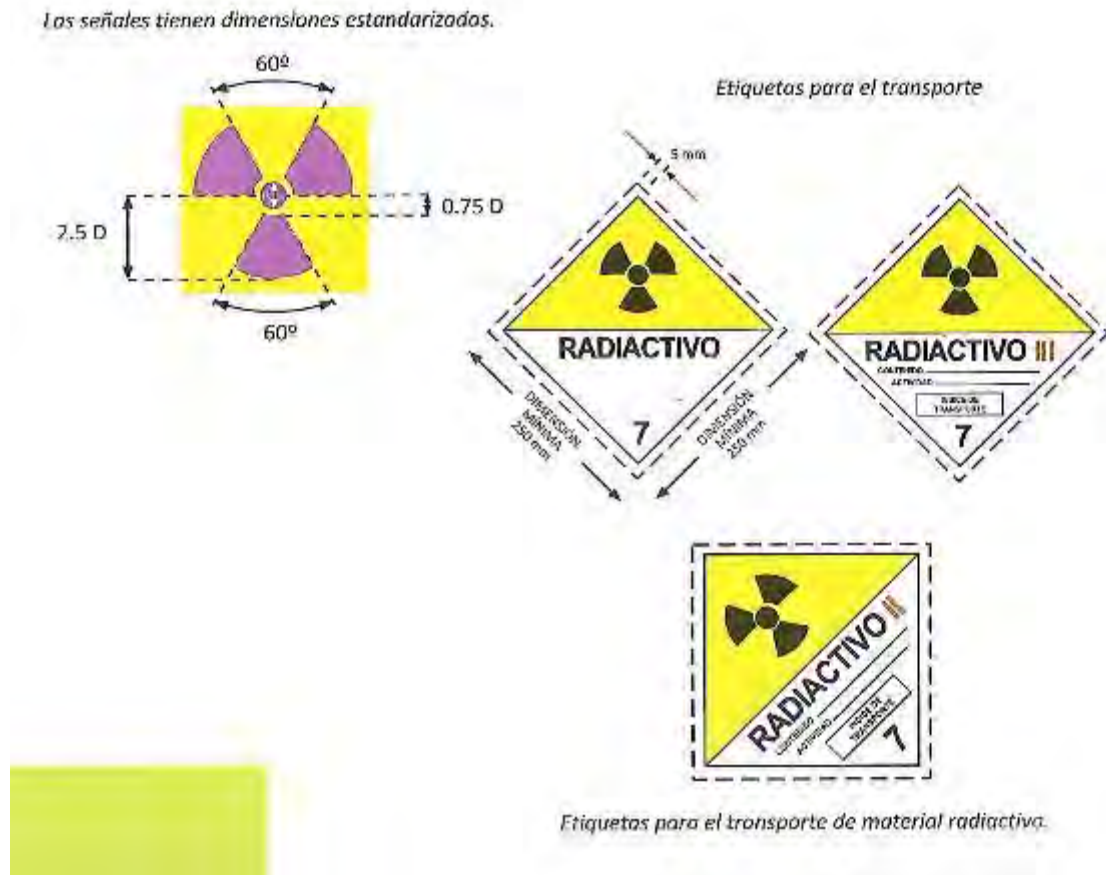


Figura 14. Símbolo internacional de la radiación

Llamado trisector o “trébol” radiactivo cuyo color es magenta con fondo amarillo, a diferencia del símbolo utilizado sólo para transporte en el cual el trisector es de color negro bajo un fondo amarillo (Decreto Supremo N°12, Reglamento para el Transporte seguro de materiales radiactivos, anexos) [71].

7.7.2. Zona de mesas de trabajo

- Utilizar bandejas para derrames cubiertas con material absorbente desechable.
- Limitar las cantidades de radionúclidos.
- Blindar las fuentes de radiación en las zonas de radiaciones, de mesas de trabajo y de desechos radiactivos.

- Marcar los recipientes de materiales radiactivos con el símbolo apropiado, anotando también la identidad del radionúclido, su actividad y la fecha del análisis (Figura 15).
- Utilizar medidores de la radiación para vigilar las zonas de trabajo, la ropa protectora y las manos una vez terminado el trabajo.
- Utilizar para el transporte recipientes debidamente blindados (Transporte de Material Radiactivo, Decreto de Ley N°12 de 1984, “Reglamento para el transporte seguro de materiales radiactivos”) [71].



Figura 15. Señalización para el transporte de material radiactivo.

7.7.3. Desechos radiactivos

Los residuos radioactivos de baja intensidad, definidos como categoría 2 de acuerdo al Decreto Supremo N°6 de 2009 “*Reglamento sobre Manejo de Residuos de Establecimientos de Atención de la Salud (REAS)*” del Ministerio de Salud [15] son aquellos cuya actividad específica luego de su almacenamiento, ha alcanzado un nivel inferior a 74 becquerelios por gramo o a dos milésimas de microcurio por gramo. La segregación, almacenamiento, transporte y tratamiento de estos residuos debe realizarse conforme a la normativa vigente. Considerando las características que presentan los laboratorios del país, el manejo de estos residuos no será abordado en esta guía.

Desecho radiactivo: Cualquier sustancia radiactiva o material contaminado por dicha sustancia que, habiendo sido utilizado con fines científicos, médicos, agrícolas, comerciales, industriales u otros, sean desechados (Decreto Supremo N°133, Título II, artículo 6, letra d) [67].

Sustancia radiactiva: Cualquier sustancia que tenga una actividad específica mayor de dos milésimas de microcurio por gramo (2 nCi/g) o su equivalente en otras unidades (74 Bq/g) (Decreto Supremo N°133, Título II, artículo 6, letra b) [67].

Del abandono o desecho de sustancias radiactivas: Todo abandono o desecho de sustancias radiactivas, requerirá de autorización del Servicio de Salud respectivo (Decreto Supremo N°133, Título VI, artículo 22) [67].

7.7.4. Gestión de los residuos generados

Los residuos generados en todas las técnicas, se caracterizarán cuantificándolos en volumen o masa y estableciendo las condiciones para la segregación, el almacenamiento y la gestión final [7]. La caracterización de los desechos contempla las siguientes fases:

- Especificar el tipo de residuos.
- Medir y/o estimar la actividad presente en el residuo, expresando el resultado en Bq/g o Bq/L. Dada la dificultad para valorar la actividad presente en los residuos heterogéneos que se van generando a lo largo del proceso, se propone como método de estimación el asignar la actividad medida al residuo cuando esto pueda realizarse y suponer una distribución homogénea del resto no medible hasta totalizar la actividad inicial.

Se complementan con los siguientes ítems:

- Descripción: Donde se relata someramente al residuo, ejemplo: Vial de plástico.
- Tipo de residuo: Sólido, líquido, mixto o biológico. Los residuos transferibles a la empresa que retire los desechos se recomienda la codificación (Anexo 8, tipificación de los residuos de instalaciones radioactivas).

- Actividad específica: Se dará en Becquerel o múltiplos por unidad de volumen o masa.
- Cantidad de volumen: Volumen total generado para cada cantidad homogénea de residuos.
- Contenedor: Se trata del contenedor de destino, por ejemplo, bolsa forrada de 25 L o contenedor de residuos acuosos.
- Almacén: Se indicará en el lugar donde se destinará el contenedor del residuo generado, existiendo 3 posibilidades:
 - ✓ Evacuación convencional directa.
 - ✓ Evacuación convencional previo decaimiento.
 - ✓ Evacuación por entidad autorizada.

En el anexo 8 se describe una tabla de radionúclidos mayormente usados en centros de investigación y sus posibles residuos generados.

Tabla 13. Toxicidad según tipo de material radiactivo.

TOXICIDAD	TIPO C	TIPO B	TIPO A
MUY ALTA	10 μ Ci	10 μ Ci - 10 mCi	10 mCi
ALTA	100 μ Ci	100 μ Ci – 100 mCi	100 mCi
MODERADA	1 mCi	1 mCi - 1 Ci	1 Ci
BAJA	10 mCi	10 mCi - 10 Ci	10 Ci

Tabla 14. Clasificación según Radiotoxicidad

• MUY ALTA (Po, Am, Ra)
• ALTA (Na, Ca, I)
• MODERADA (Cr, Cu, Br)
• BAJA (Tc, In, H)

7.7.5. Métodos de descontaminación

El trabajo con fuentes radioactivas abiertas o no selladas implica una alta probabilidad de contaminación de la superficie de trabajo como del operador. Por esta razón, como práctica habitual, se debe verificar la ausencia de material radioactivo

sobre la superficie de trabajo aplicando técnicas sencillas de monitoreo, como por ejemplo la técnica de frotis la cual se indica a continuación [72]:

Técnica A

1. Recortar un trozo de papel filtro de tamaño adecuado (3 – 4 cm²).
2. Utilizar guantes.
3. Realizar el arrastre en una superficie de 10x10 cm.
4. Pasar el filtro sobre la superficie cargando moderadamente con la yema de los dedos en una sola dirección sin destruir el filtro.
5. Volver a realizar el arrastre a un costado del área frotada, teniendo en cuenta girar previamente el filtro para utilizar las partes que en el arrastre anterior no lo hicieron.
6. No pasar más de una vez por la misma zona.
7. Todo lo anterior se deberá realizar hasta cubrir toda la superficie a monitorear
8. Determinar la radiactividad en el filtro según el radionucleído utilizado, si es emisor beta: usar contador geiger, (excepto para tritio y carbono14 que se debe usar centelleo líquido).
9. Si es emisor gamma: contador geiger o detector de centelleo sólido (NaI(Tl)).

Técnica B

1. Recortar un trozo de papel filtro de tamaño adecuado (3 – 4 cm²).
2. Utilizar guantes.
3. Realizar el arrastre en una superficie de 10x10 cm.
4. Rotar el filtro en forma circular sobre la superficie en sentido horario, cargando moderadamente con la yema de los dedos sin destruir el filtro.
5. Volver a realizar el arrastre a un costado del área frotada, teniendo en cuenta girar previamente el filtro para utilizar las partes que en el arrastre anterior no lo hicieron.
6. No pasar más de una vez por la misma zona.
7. Todo lo anterior se deberá realizar hasta cubrir toda la superficie a monitorear

8. Determinar la radiactividad en el filtro según el radionúclido utilizado, si es emisor beta: usar contador geiger, (excepto para tritio y carbono14 que se debe usar centelleo líquido).
9. Si es emisor gamma: contador geiger o detector de centelleo sólido (NaI(Tl)).

En ambos casos, considerar que hasta tres veces el valor de la radiación de fondo o background (determinado antes de iniciar el trabajo con el material radiactivo), será considerado como nivel de investigación y luego 2 veces ese valor será considerado contaminación y se debiera aplicar un método de descontaminación. El papel filtro puede utilizarse seco o humedecido con etanol dependiendo de la superficie de trabajo.

Materiales y/o superficies de trabajo.

Todos los procedimientos para eliminar una contaminación externa han de evitar la entrada del radionúclido al interior del organismo.

Cuando se ha producido una contaminación externa, se recomienda proceder de la siguiente manera:

- Señalizar la zona controlada.
- Descontaminar por vía húmeda para evitar la dispersión del radionúclido.
- Aplicar agentes descontaminantes.

Tabla 15. Medios a emplear en función de la superficie

Superficies pintadas	Utilizar agua con detergente común, si no desaparece, utilizar un disolvente (Glicerina, acetona).
Superficies porosas	Cuando la contaminación está incrustada se recomienda utilizar un aspirador (con filtro para el aire que expulse).
Vidrio	Mezcla Crómica
Metal	Utilizar detergentes comerciales.
Acero inoxidable	Utilizar ácido sulfúrico (3 al 5%)
Ropa	Utilizar solución de EDTA al 3% templada a 25°C.

Tabla 16. Medios a emplear en función del radioisótopo (usados más frecuentemente)

Tc-99m, Ga -67, In-111, Fe-59, Cr-51, Co-57	Lavar con gasas o algodones empapados en una solución con EDTA al 3%.
I-131, I-125	Lavar con gasas o algodones empapados en una solución de tiosulfato de sodio al 1%.
H-3, C-14, P-32	Lavar con gasas o algodones empapados en alcohol.

Acciones a realizar:

- Comprobar que la contaminación ha desaparecido, si no es así, continuar con la descontaminación.
- Si no desaparece, existen dos posibilidades: se deja decaer la actividad del material contaminado hasta que alcance niveles aceptables, en caso de que esto no sea posible, debiera tratarse como desecho radioactivo.

Personal

La contaminación personal supone la incorporación de material radiactivo en el organismo.

Puede ser:

- Externa o cutánea, cuando el radionúclido se deposita en la piel.
- Interna, cuando el radionúclido entra en el interior del organismo.

Descontaminación Externa

Todos los mecanismos de descontaminación personal debieran ir encaminados a evitar la entrada del radionúclido al organismo. No se recomienda utilizar procedimientos muy agresivos porque dañan la piel facilitando las vías de entrada del agente contaminante.

Se recomienda:

- 1.- Quitar bata, ropa y demás prendas presumiblemente contaminadas. Controlar el material con el monitoreo apropiado.
- 2.- Lavar la zona afectada con agua tibia y jabón neutro procurando no extender la contaminación. Se puede utilizar un cepillo suave para evitar la lesión de la piel.
- 3.- No utilizar agua muy caliente o disolventes orgánicos para evitar la penetración del radioisótopo.
- 4.- Aplicar métodos de descontaminación, según las partes del cuerpo, como se precisa a continuación:

Tabla 17. Métodos de descontaminación según las partes del cuerpo.

Heridas abiertas	Lavar con chorro de agua abriendo bien la herida hasta que sangre. Posteriormente, lavar con jabón neutro líquido y aplicar un antiséptico y cubrir la herida.
Ojos	Lavar con agua tibia estéril, suero salino o ácido bórico(2%), preferiblemente con frasco lavaojos durante 15 minutos, como mínimo.
Boca	Enjuagar con agua con sal procurando no tragar nada
Oídos	Lavar con abundante agua
Piel	Lavar con agua tibia y jabón neutro insistiendo en uñas, pelo, espacios interdigitales, arrugas. En caso de contaminación en la cara, se mantendrán los ojos cerrados y boca cerrada.
Manos	Lavar con agua tibia y jabón neutro.

Descontaminación interna.

El tratamiento de la contaminación interna se adecuará a las características fisicoquímicas de las sustancias incorporadas al organismo y seguirá las pautas dadas por un servicio médico especializado.

Las vías de la contaminación interna son por inhalación, ingestión o absorción percutánea.

En caso de que se produzca o sospeche una contaminación interna el responsable de la protección radiológica comunicará la necesidad de que se realice una dosimetría interna (Comisión Chilena de Energía Nuclear).

Esta dosimetría, puede basarse en las técnicas de vigilancia siguientes:

- Medición directa de todo el organismo o parte de él. Utilizando el contador de radiactividad corporal que se encuentra en CCHEN. Está indicado fundamentalmente para emisores gamma.
- Medición de muestras biológicas (orina, heces, secreciones nasales, otros), indicados para emisores alfa o gamma.

Asimismo, para facilitar la evaluación dosimétrica, es conveniente, cuando se produce una contaminación, tener en cuenta los siguientes pasos:

- Momento exacto del incidente.
- Tipo de incorporación: inhalación, ingestión, absorción.
- Tipo de radionúclido que estaba manipulando.
- Forma química (soluble/insoluble).
- Estimación de la actividad incorporada.

7.7.6. Registros y situaciones de exposición de emergencia

7.7.6.1. Responsabilidades

En situaciones de exposiciones ante emergencias, se debería determinar previamente la asignación de responsabilidades para la gestión de las intervenciones con las autoridades competentes, las entidades intervinientes nacionales y locales, así como los titulares registrados o titulares con licencia.

7.7.6.2. Planes de emergencia

Se debieran preparar planes de emergencias, por separado, pero mutuamente relacionados, que especifiquen como se cumplirán las responsabilidades para la gestión de las intervenciones en el emplazamiento y fuera del emplazamiento según proceda.

Se debiera velar porque:

- Se preparen y aprueben planes de emergencias para toda práctica o fuente que pueda hacer necesaria una intervención de emergencia, así como las entidades que se deban incluir en la participación de un incidente.
- Al fijar el contenido, las particularidades y el alcance de los planes de emergencias, se tengan en cuenta los resultados de todo análisis de accidente y todas las enseñanzas derivadas de las experiencias de funcionamiento y de los accidentes que hayan ocurrido con fuentes similares.
- Los planes de emergencias se revisen y actualicen periódicamente.
- Se adopten disposiciones para la capacitación del personal encargado de ejecutar los planes de emergencia y dichos planes se ensayen a intervalos adecuados.
- La instalación cuente con, al menos, los recursos de emergencias:
 - Sistema contra incendios.
 - Alumbrado de emergencias.
 - Ducha de emergencias
 - Equipos de protección personal
 - Botiquín de primeros auxilios (Anexo 9).

7.7.6.3. Personal implicado

Las personas que vayan a participar en el plan de emergencias debieran poseer un conocimiento suficiente de la instalación y de protección radiológica. Estarán controladas mediante dosimetría personal. Tienen que proteger los principales riesgos:

- Exposición externa. Es necesario conocer los factores básicos para reducir la exposición externa (tiempo, distancia, blindaje).
- Exposición interna. Utilizar máscaras respiratorias de protección, provistas de los filtros adecuados.
- Contaminación externa. Utilizar ropa de protección desechable (bata, calzado, guantes, gorro).

7.7.6.4. Fases del plan de emergencia

Un plan de emergencias debiera ser lo suficientemente flexible para permitir su adaptación a las situaciones reales de cada accidente. A continuación, se enumeran una serie de fases que se recomienda realizar:

- Impedir el acceso de personal donde se ha producido el incidente/accidente.
- Localizar las personas que puedan haber estado expuestas o sujetas a contaminación ambiental, se recomienda proceder a la lectura de su dosímetro personal y un reconocimiento médico.
- Cuando la contaminación afecte a una dependencia completa o pueda dar lugar a contaminación ambiental, se recomienda cerrar esta instalación, así como sus sistemas de ventilación. En caso de que el incidente afecte a una zona de la dependencia se recomienda señalizarla con una cinta que indique “precaución, zona contaminada”.
- Descontaminación del personal afectado.
- Descontaminación del área.
- Notificación a las autoridades competentes, conteniendo, como mínimo, los siguientes datos.
 - Nombre, dirección y teléfono del centro en donde se encuentra la instalación.
 - Titula de la instalación radioactiva.
 - Naturaleza del accidente (radioisótopo, actividad inicial de la fuente, información física y química sobre el material radioactivo).
 - Descripción del lugar del incidente.
 - Posibilidades de riesgo para el público.

7.8. Laboratorios con equipos generadores de rayos X.

Las instalaciones con este tipo de generadores de rayos X y que están aprobadas por la autoridad competente para su uso, al estar autoblandadas y disponer de sistemas de seguridad, el riesgo de irradiación es prácticamente nulo.

Entre ellos se encuentran:

- Equipos de difracción de rayos X

- Irradiadores gamma de muestras biológicas.

En instalaciones con equipos generadores de rayos X no aprobados, el único riesgo probable de irradiación externa, es cuando el tubo de rayos X está en funcionamiento.

Su utilización puede darse en:

- Investigación de física corpuscular.
- Experimentación con animales.

7.9. Instalaciones con equipos de rayos X con fines de diagnóstico médico.

En este tipo de instalaciones, el único riesgo probable es el de irradiación externa, que sólo se produce cuando está en funcionamiento el equipo de rayos X. Su utilización se da en:

- Radiografía dental en clínicas odontológicas.
- Radiografía y fluoroscopia en aplicaciones clínicas y Laboratorios con fuentes selladas

8. MANEJO DE EMERGENCIAS EN LABORATORIOS.

8.1. Manejo de emergencias químicas

La siguiente sección describe las medidas de precaución que debiera considerar una persona que se enfrentada a situaciones de:

- Incendio
- Derrame o fuga de químicos
- Desalojo o refugio en el lugar de incendio

8.1.1. Incendios

Los incendios o incidentes con materiales peligrosos pueden ocurrir cuando una persona se encuentra dentro o fuera de un edificio, o durante el transporte, y cada una de estas situaciones requiere procedimientos diferentes.

- En caso de amenaza de incendio: Llamar al 132
- Si el incendio se produce dentro del edificio, activar la alarma contra incendios más próxima y desalojar el edificio. No entrar al edificio hasta que lo autorice el personal de emergencias y seguir sus instrucciones.

8.1.2. Derrame o fuga de químicos

En caso de amenaza de derrame o fuga de materiales peligrosos:

- Llamar al 132
- Alejarse del lugar de peligro y dirigirse a un lugar seguro.
- Advertir a las personas que se encuentren en el área inmediata.
- Seguir las instrucciones del personal de emergencias

8.1.3. Desalojo o refugio en el lugar

En algunas situaciones de emergencia, tales como inundaciones o emisiones de materiales peligrosos, el personal de respuesta en emergencias pudiera ordenar medidas de protección para las personas que viven o trabajan en el área. Típicamente, estas medidas de protección incluyen el desalojo a un lugar más seguro o a un refugio

en el lugar. Es posible que algunas situaciones de emergencia pudieran requerir distintas medidas de protección en diferentes zonas. Cuando dichas medidas estén justificadas, se comunicarán de manera apropiada por parte de los organismos de respuesta a emergencias, por ejemplo: emisoras de radio y televisión, sistema de alerta ante emergencias, sistemas de megafonía, altavoces, notificaciones de puerta a puerta y otros medios apropiados.

El diagrama de flujo de cómo enfrentar una emergencia con sustancias químicas se describe en la figura 16.

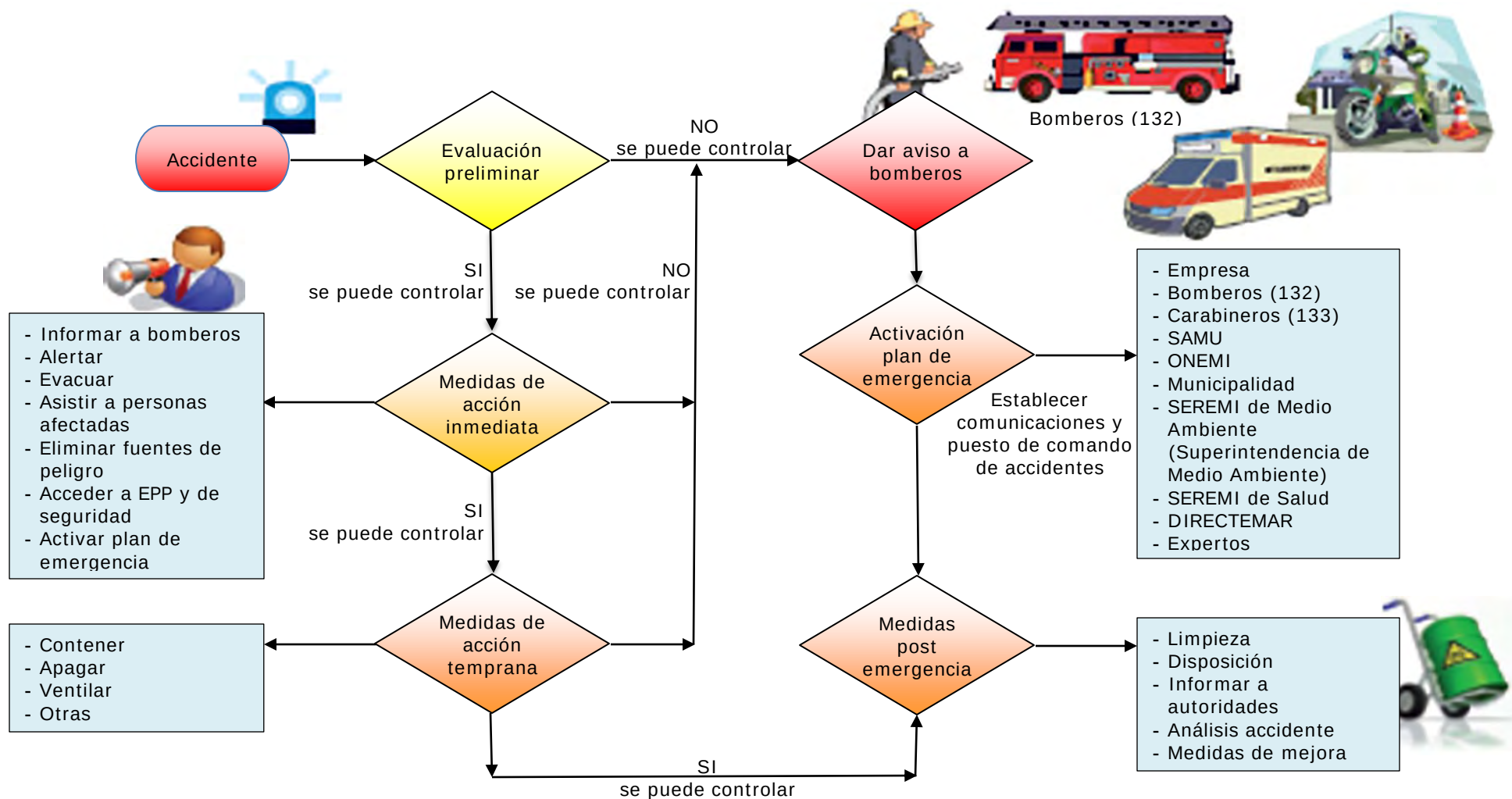


Figura 16. Diagrama de flujo de cómo enfrentar una emergencia con sustancias químicas.

8.2. Consideraciones durante una emergencia

8.2.1. Medidas de acción inmediata

A continuación, se describe una serie de consideraciones que debieran aplicarse durante los primeros instantes de una emergencia.

a) Ser consciente del entorno

Ser consciente de dónde se está y de lo que está ocurriendo alrededor puede ayudar a comprender el impacto que la información, los sucesos y las propias acciones pueden tener sobre la seguridad personal y la capacidad de protección, ahora y en un futuro próximo. Se pueden usar los sentidos para identificar posibles situaciones con materiales peligrosos, debiendo considerar lo siguiente:

- Información de colegas y/o afectados respecto a olores como de fruta podrida, azufre, pólvora, pasto cortado, pescado podrido, cloro, esmalte para uñas o pintura
- Nubes de vapor
- Animales o peces muertos
- Fuego o humo
- Informe de víctimas, con piel u ojos irritados
- Sonidos producidos por fugas de gas
- Sonido de una explosión

b) Protección

Con base en una valoración de la situación, utilizar juicio para obtener protección para la persona y, si fuera posible, proteger a los demás.

c) Pedir ayuda

Llamar a cualquier servicio de emergencia marcando el 132 o 133 o el teléfono del plan cuadrante local de Carabineros.

d) Ayudar a los demás

Una vez se encuentre a salvo y alejado del peligro, se debiera advertir a los demás del riesgo y ayudar en lo posible, sin ponerse uno mismo en peligro.

8.2.2. Medidas de acción temprana y oportuna

Las medidas a aplicar en caso de una emergencia se indican a continuación:

a) Desalojo del área

El desalojo es una retirada organizada de un edificio o zona para llegar a un lugar seguro ubicado a una distancia prudente de la zona de riesgo. Una vez recibida la notificación de desalojo, rápidamente se debiera hacer lo siguiente:

- Vestirse de acuerdo con el clima.
- Llevar solamente lo esencial (por ejemplo, lentes, medicinas, tarjetas de identificación, dinero).
- Desconectar los equipos que no sean necesarios como computadoras, impresoras y otros
- Cerrar la puerta cuando se salga de la habitación.
- Seguir las instrucciones sobre rutas seguras para el desalojo.
- Escuchar la radio, si estuviera disponible, para seguir de cerca la situación de desalojo.
- No utilizar vehículos propios a menos que se reciban instrucciones específicas de hacerlo.
- Si se utilizan vehículos para el desalojo, cerrar las ventanillas y apagar los sistemas de aire acondicionado.
- Si se necesita ayuda especial, comunicarse con la persona de contacto apropiada para casos de emergencias. Si esta persona no está disponible, llamar al 132 para pedir ayuda.

b) Refugio en el lugar

Cuando las condiciones de emergencia no justifican o permiten el desalojo, el método más seguro para proteger a las personas pudiera ser refugiarse en las propias instalaciones y esperar futuras instrucciones.

- Entrar a un edificio o quedarse en su interior, evitar las ventanas y las áreas acristaladas.
- Llevar una radio o televisión al cuarto, si estuvieran disponibles, para seguir de cerca la situación de emergencia.
- Mantener las líneas de teléfono desocupadas para el personal de respuesta en emergencias, no llamar al 132 para pedir información.

Si hubiera materiales peligrosos, además se debiera considerar:

- Apagar todos los sistemas de ventilación y cerrar todas las entradas de aire del exterior.
- Seleccionar un cuarto o cuartos que sean fáciles de sellar y, si fuera posible, que tengan suministro de agua y acceso a los baños.
- Si se huele gas o vapor, cubrirse ligeramente la nariz y la boca con un trapo mojado y respirar a través del trapo de la manera más natural posible.

c) Incendios

Un incendio considerable en el lugar de trabajo o durante el transporte podría afectar zonas residenciales, educacionales y comerciales con múltiples ocupantes y/o instalaciones concentradas en un área, aumentando así la posibilidad de propagación de un incendio estructural.

Por lo tanto, es muy importante que se reconozcan los riesgos, se practiquen desalojos de los edificios y de áreas cercanas y se sepa qué hacer en caso que se genere una emergencia de este tipo.

c.1) Incendio dentro de un edificio

- Activar la alarma contra incendios o tirar de la manilla en el panel de control de incendios.

- Llamar al 132 y dar tu nombre, nombre del edificio, dirección, piso, lugar y demás información pertinente.
- Desalojar el edificio siguiendo las instrucciones de desalojo del edificio.

c.2) Desalojo del edificio - Cuando suene la alarma contra incendios.

- Desalojar de inmediato el edificio utilizando los procedimientos del plan de emergencia.
- Dirigirse caminando a la salida/escalera más próxima (cerrando las puertas tras de ti).
- No utilizar los ascensores.
- Dirigirse al lugar de reunión designado fuera del edificio y presentarse al encargado de emergencias (para un recuento de personas).
- No entrar al edificio hasta que el personal autorizado dé permiso.
- Ayudar con el desalojo de las personas con necesidades especiales.

c.3) Incendio fuera de un edificio.

- Llamar al 132 y dar nombre, nombre del edificio, dirección, piso, lugar y demás información pertinente.
- No activar el sistema de alarma contra incendios del edificio.

c.4) Incendio durante el transporte.

- Llamar al 132 y dar nombre, nombre de la sustancia transportada (Numero NU), localización (puntos de referencia), cantidad transportada, empresa transportista y demás información pertinente.
- En caso de incendio de pequeña escala utilizar extintor (Ver c.5), en caso de incendio de mediana o gran escala, evacuar a zona segura y esperar ayuda.

c.5) Uso de extintor.

Se debiera utilizar un extintor de incendios si:

- Se ha recibido capacitación apropiada (capacitación con prácticas).

- Se trata de un incendio de poca importancia y contenido (por ejemplo, en una papelería).
- Se puede apagar en 12 segundos (si tarda más, desalojar el área inmediata).

Si no se puede salir del edificio, se debiera crear una zona de refugio:

- Sellar el cuarto.
- Utilizar trapos húmedos para tapar las grietas en el suelo y cubrir los conductos de ventilación para proteger contra el humo. No romper las ventanas, a menos que sea como último recurso para escapar. Quedarse cerca del suelo, por debajo del humo. El aire más fresco está cerca del suelo.
- Cubrirse la nariz y la boca con un trapo mojado, respirar solamente por la nariz. Hacer señales para pedir ayuda.
- Llamar al 132 o colgar algo en la ventana del cuarto.

c.6) Después de un incendio.

- Administrar primeros auxilios si fuera apropiado (Anexo 9). Transportar de inmediato a las víctimas con heridas o con quemaduras graves para que reciban ayuda médica profesional.
- Permanecer fuera de los edificios dañados. Regresar a los edificios cuando las autoridades locales de control de incendios declaren que es seguro hacerlo.
- Ser consciente de los daños estructurales.
- Desechar los alimentos que hayan estado expuestos al calor, humo u hollín.
- No desechar los objetos dañados hasta después de haberse realizado un inventario.

d) Derrames químicos.

Los materiales peligrosos se presentan en forma de explosivos, sustancias inflamables y combustibles, tóxicas y materiales radioactivos. Muchos productos que contienen sustancias químicas peligrosas se usan y se almacenan en los sitios de trabajo y hogares de manera habitual y estos materiales se manejan diariamente en el entorno de investigación universitaria.

Los materiales peligrosos en sus diversas formas pueden producir la muerte, lesiones graves, efectos nocivos duraderos para la salud y daños a edificios, hogares y otras propiedades.

Si se produce una emisión de material peligroso/derrame químico:

d.1) Dentro de un edificio:

Aislar y proteger el área del derrame.

- Avisar a las personas que se encuentren en el área inmediata.
- Dependiendo del peligro, limpiar solo si se ha recibido capacitación para ello y si se cuenta con equipo de protección personal apropiado.
- Llamar al 132 e informar sobre el lugar y el tipo de material derramado.
- Desalojar el edificio si fuera necesario (utilizar el sistema de comunicaciones o el sistema de alarma contra incendios del edificio).
- Colaborar con el personal de respuesta en emergencias.

d.2) Fuera de un edificio o durante el transporte:

- Aislar y proteger el área del derrame.
- Avisar a las personas que se encuentren en el área inmediata.
- Llamar al 132 y dar información sobre el lugar y el tipo de material derramado.
- No eliminar el material derramado por el alcantarillado.
- Colaborar con el personal de respuesta en emergencias.
- Si hay lesiones personales por contaminación química:
- Ayudar con el procedimiento de lavado de ojos/duchas, si fuera apropiado.
- Administrar primeros auxilios de inmediato para las lesiones graves (Anexo 9).
- Llamar al 132 e informar sobre el lugar, tipo de material y alcance de las lesiones.
- Notificar al departamento de prevención de riesgos o a un superior de la situación.
- Si fuera posible, pero sin hacer daño a la víctima, quitar la ropa contaminada y guardarla en una bolsa.

- Buscar hoja de datos de seguridad del material en cuestión. La hoja de datos de seguridad de materiales es un documento creado por un fabricante o distribuidor de un producto químico, que proporciona información acerca del contenido, características, riesgos físicos y peligro para la salud asociados con dicho producto químico.

e) Fuga de gas

Una fuga de gas se refiere a una fuga de gas natural, gas licuado de petróleo o gases especiales como cloro, oxígeno, nitrógeno, argón, acetileno, etc. desde una tubería o recipiente, a una zona de estar o a cualquier otra zona donde no debiera haber gas. Puesto que algunos de estos gases pueden explotar cuando se expone a llamas o chispas, es importante informar de inmediato si se sospecha la presencia de una fuga de gas.

Si se percibe olor a gas:

- Llamar al 132, indicar identificación de quien llama y el lugar donde se detecta el olor.
- Avisar a las personas que se encuentren en el área inmediata.
- Desalojar y proteger el área.
- Notificar a un superior de la situación.
- Colaborar con el personal de respuesta en emergencias.

Si se produce una fuga considerable, tal como la rotura de una tubería:

- Llamar al 132 e indicar al despachador identificación de quien llama, el lugar donde se detecta el olor y demás información pertinente.
- Iniciar el desalojo del edificio, o si es en el exterior, aislar la zona.
- Avisar a las personas que se encuentren en el área inmediata.
- Evitar fuentes de encendido (cigarrillos, equipo eléctrico, etc.).
- Colaborar con el personal de respuesta en emergencias.
- No entrar al edificio, o la zona en el exterior, hasta que el personal autorizado dé permiso.

En el Apéndice D, de la Guía de Recomendaciones para enfrentar emergencias con Sustancias Químicas [73] se destacan algunos ejemplos sobre cómo enfrentar una emergencia con sustancias químicas al momento de ocurrida ésta, considerando riesgos y aspectos ambientales.

8.2.3. Plan nacional para enfrentar emergencias o desastres con sustancias o materiales peligrosos

La Oficina Nacional de Emergencia del Ministerio del Interior, ONEMI elaboró un plan para establecer un marco de acción permanente para el manejo coordinado de las acciones destinadas a enfrentar eficaz y eficientemente las situaciones de emergencia y desastre provocadas por sustancias o materiales peligrosos que amenacen la vida, salud, bienes y el ambiente en un área determinada. Este documento se denomina ACCEQUIM [74].

8.3. Riesgos eléctricos

Los riesgos a accidentes eléctricos en laboratorios se puede dar por [3]:

- Cables y equipos eléctricos defectuosos.
- Ausencia de conexión a tierra.
- Errores operacionales.
- Adicionalmente a la quemadura existe la posibilidad de shock eléctrico y la de fuego cuando las chispas actúan como fuente de ignición. También los propios equipos pueden sufrir daños serios.

Entre las medidas de prevención de accidentes eléctricos se puede describir:

- En caso de cables eléctricos averiados, o cualquier otra anomalía, informar de inmediato al encargado de Bioseguridad para dar aviso a la sección encargada de obras de ingeniería o mantención eléctrica para su reparación.
- Dejar de utilizar los aparatos con anomalías e impedir que los demás los utilicen.
- La primera medida, en caso de incidentes o avería es desconectar siempre el aparato o equipo desde la fuente de corriente.
- Evitar realizar reparaciones provisionales (no deben utilizarse cables dañados).

- Todas las instalaciones, incluidos cables y enchufes, deben estar en buen estado y ser revisadas periódicamente.
- Los cables eléctricos deben protegerse mediante canalizaciones de caucho duro o plástico cuando estén depositados sobre el suelo en zonas de tránsito o de trabajo
- No dejar conectado a la corriente los equipos o instrumentos en forma innecesaria.

8.4. Ruido

Con respecto a los efectos del ruido en los laboratorios, el Decreto N°594 sobre “Condiciones Sanitarias y Ambientales Básicas en los lugares de trabajo”, de 1999 en su Título IV sobre la contaminación ambiental, en el Párrafo III de Los Agentes Físicos y en los artículos N°s 70 al 82 explicita todo lo referente a la exposición a ruido en lugares de trabajo [64].

8.5. Uso de gases en los laboratorios

Cuando los gases son manejados por personas capacitadas e informadas de sus riesgos potenciales, son tan seguros como cualquier producto químico sólido o líquido, en cualquiera de sus procesos de fabricación, envasado, transporte y utilización. En general quien manipula, transporta o utiliza gases, debiera estar siempre muy bien informado sobre los riesgos de los gases para así siempre prevenir las posibles situaciones de potenciales accidentes

El manipulador, transportista o usuario de gases debiera previamente:

1. Conocer las características y posibles riesgos del gas (o gases) que maneja.
2. Conocer las características y forma correcta de manejo y almacenamiento de envases y equipos para gases comprimidos o criogénicos.

8.5.1. Identificación de los gases

Los distintos gases tienen diferentes propiedades, las que motivan que los envases, equipos, normas de transporte y uso sean también diferentes.

El primer factor de seguridad es conocer con qué se trabaja, evitando errores de identificación:

- Nunca usar cilindros no identificados adecuadamente (color, marcas, etiquetas), ni equipos que no sean diseñados específicamente para el gas correspondiente (válvulas, cilindros, reguladores, etc.).
- No dejar que los cilindros se contaminen, para ello se debiera mantener un saldo de presión en los cilindros vacíos y la válvula cerrada.
- En caso de mezclar dos gases, debiera conocerse su compatibilidad, o, si la mezcla fue accidental, controlar de inmediato el escape u otra causa de mezcla.
- Nunca intentar realizar mezclas de gases sin el equipo adecuado o sin saber las propiedades de la mezcla.
- Si un cilindro pierde su etiqueta, debiera ser devuelto al distribuidor, marcando el cilindro como no identificado.
- Nunca debiera confundirse cilindros vacíos con otros llenos, conectar un cilindro vacío a un sistema presurizado puede causar graves daños.

8.5.2. Toxicidad

En general todos los gases industriales representan algún riesgo, el cual debiera ser especificado en la Hoja de Datos de Seguridad.

Se debiera revisar para cada gas sus efectos fisiológicos, sobre todo en casos de existir personas que trabajen en lugares en que la concentración de un gas sea habitualmente alta o en ambientes cerrados y mal ventilados.

Se sugiere tener presente:

- Todos los gases que son más pesados que el aire, pueden causar asfixia al desplazar al aire atmosférico, o reducir el porcentaje de oxígeno a un nivel más bajo. Esto último, especialmente en lugares cerrados o mal ventilados.
- Por ser los gases incoloros, y muchas veces inodoros, los escapes no son apreciables a simple vista, y los síntomas de asfixia pueden ser detectados demasiado tarde.
- Al abrir la válvula nunca ponerse frente al flujo de gas, ni interponer las manos, especialmente cuando no se conocen las características del gas en uso.

- En el caso de gases de uso médico, es indispensable que quien los administre conozca bien los efectos de cada gas y los porcentajes correctos de mezclas de aire y otros gases.

8.5.3. Efectos fisiológicos potenciales de una atmósfera gaseosa

Si bien muchos gases son del tipo inerte y no inflamable (nitrógeno, oxígeno, argón, etc.), estos tienen el potencial de producir una atmósfera deficiente de oxígeno al disminuir el porcentaje de este en el aire provocando asfixia. A continuación, se muestra una tabla con los efectos y síntomas de una atmósfera de este tipo (Tabla 17), así como también una atmósfera con distintas concentraciones de monóxido de carbono (Tabla 18).

Tabla 18. Atmósferas deficientes en oxígeno

Contenido de oxígeno (% volumen)	Efectos y síntomas (a presión atmosférica)
19,5%	Nivel de oxígeno mínimo permisible
15 - 19%	Disminuye la capacidad de trabajos intensos. Puede inducir síntomas tempranos en personas con problemas en las coronarias, pulmones o circulatorios
12 - 14%	Se respira con mayor esfuerzo, aumenta el pulso, deterioro de la coordinación, percepción y juicio.
10 - 12%	Respiración aumenta en velocidad y profundidad, capacidad de juicio pobre, labios azules.
8 - 10%	Falla mental, inconsciencia, cara pálida, labios azules, náuseas y vómitos.
6 - 8%	En 8 min; 100% total. En 6 min; 50% total. En 4 a 5 min de exposición, recuperable con tratamiento.
4 - 6%	Coma en 40 s, convulsiones, paro respiratorio, muerte.

Estos valores son aproximados y dependen del individuo, estado de salud y actividad física.

Tabla 19. Efectos potenciales de exposiciones a monóxido de carbono

Concentración (ppm)	Efectos y Síntomas	Tiempo
50	Nivel de exposición permisible	8 h
200	Leve dolor de cabeza, incomfortable	3 h
400	Dolor de cabeza, incompatible	2 h
500	Dolor de cabeza, incompatible	1 h
1000-2000	Confusión, dolor de cabeza, náusea	2 h
1000-2000	Tendencia al desequilibrio	1 ½ h
1000-2000	Palpitación cardíaca débil	30 min
2000-2500	Inconsciencia	30 min
4000	Fatal	Menos de 1 h

8.5.4. Detección de fugas de gases

Todo sistema diseñado para uso con gases presurizados debiera ser verificado en cuanto a su estanqueidad, antes de ser usado. Este control puede realizarse con nitrógeno para purgar, además del sistema, la humedad del aire.

Esta verificación permite prevenir la posibilidad de escape de gases que pueden ser tóxicos o inflamables.

Nunca debiera buscarse una fuga con una llama, acercada a las uniones o salidas. El método más sencillo es el de aplicar agua jabonosa o un líquido tenso-activo especial, el cual es formador de burbujas las cuales indicaran la presencia de escapes de gases.


Figura 17. Sistemas de detección de fugas en cañerías de laboratorios

8.5.5. Gases a alta presión

La mayoría de los gases de uso industrial o médico o de laboratorios están comprimidos a alta presión en cilindros de acero.

Un aumento excesivo de presión o la rotura de la válvula es peligroso, ya que el cilindro puede convertirse en un proyectil al dejar escapar el gas a alta velocidad.

Por esto se debiera:

- Tratar siempre los cilindros y su válvula con mucho cuidado evitando caídas, golpes o choques. Un cilindro que tenga señales de golpe o su válvula trabada, debiera ser devuelto al distribuidor.
- Cada cilindro, lleno o vacío, debiera siempre tener puesta su tapa protectora, cubriendo la válvula especialmente durante su manipulación o traslado.
- Evitar que el cilindro se caliente (el aumento de la temperatura aumenta proporcionalmente la presión). Un cilindro no se debiera exponer a temperaturas superiores a 50°C.
- No abrir la válvula con demasiada rapidez: el gas comprimido saldrá a gran velocidad, volviéndose a comprimir a enorme presión en el regulador, lo que aumenta su temperatura pudiendo llegar a la inflamación en el caso de gases oxidantes.
- Si se desea regular el flujo de gas, usar un flujómetro. Usar el regulador de presión es impreciso y riesgoso, nunca debiera usarse la válvula del cilindro para este fin.
- A medida que se ocupa el gas de un cilindro, la presión descende. El cilindro debiera considerarse vacío cuando la presión de servicio sea de 2 bar (29 psi), ya que, bajo ese valor, puede presentarse succión hacia el interior penetrando aire, humedad u otra forma de contaminación, formándose mezclas que pueden ser explosivas si el gas es inflamable.

8.5.6. Inflamabilidad de gases

Ciertos gases pueden reaccionar muy activamente o bien violentamente, liberando gran cantidad de calor y produciendo una llama, al contacto con oxígeno (ya sea puro o como parte del aire). Ellos son los gases inflamables.

El oxígeno es un gas comburente, tal como el óxido nitroso, aunque éste en grado mucho menor.

La inflamabilidad de un gas combustible depende, primero, de la concentración a la que se encuentre en la mezcla con el comburente, y en segundo lugar de la temperatura de autoignición de ésta.

8.5.7. Límites de inflamabilidad

Estos son los valores mínimos y máximos de concentración en volumen de un gas en aire, o en oxígeno, entre los que puede producirse una inflamación en presencia de una llama u otra fuente de ignición.

Si el gas posee una concentración mayor o menor a dichos límites, no se inflamará. Los límites de inflamabilidad son expresados en porcentaje.

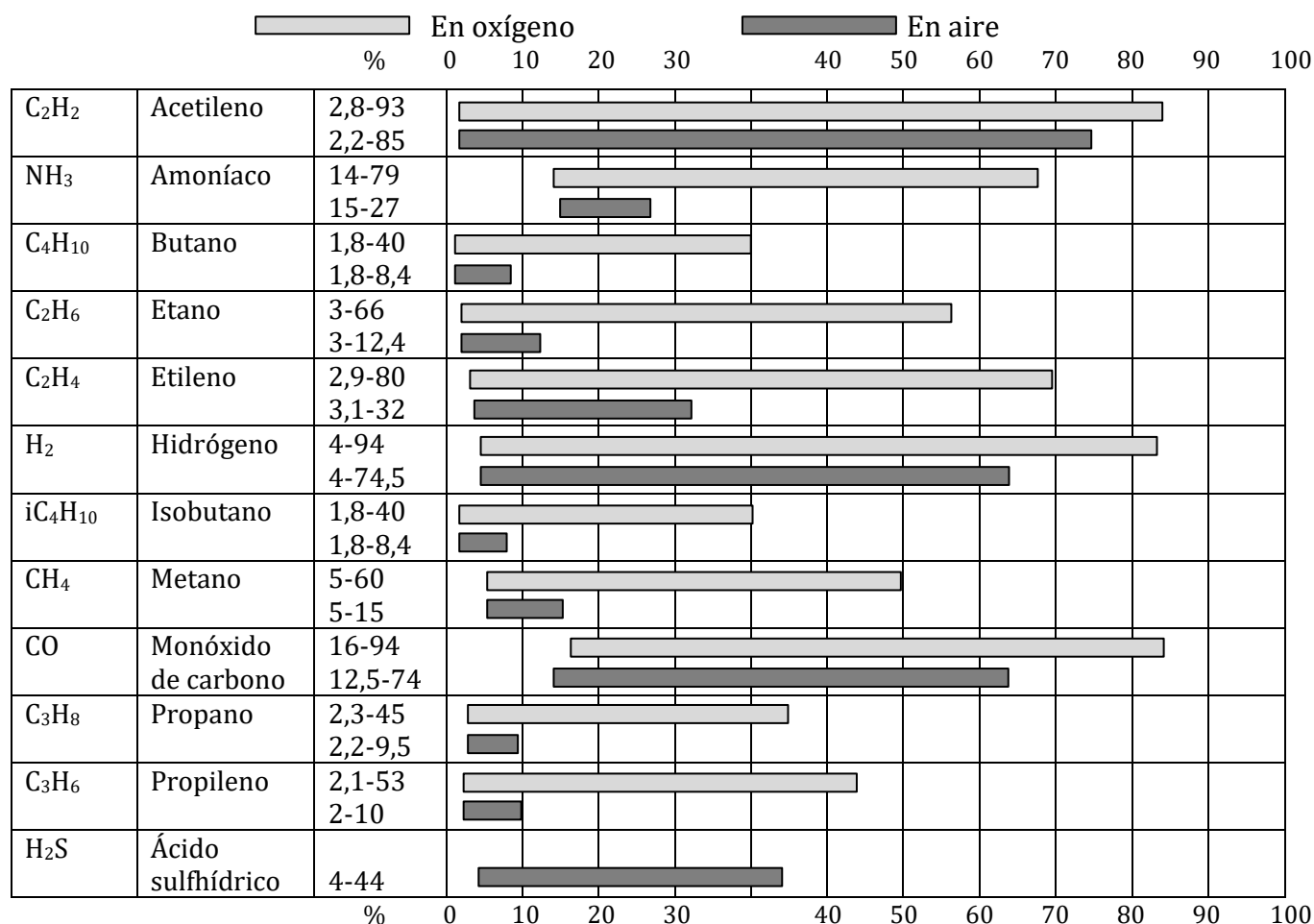


Figura 18. Límites inferiores y superiores de inflamabilidad de los gases.

Datos obtenidos a 1 atm (1,013 bar) y a 20°C.

8.5.8. Precauciones en el manejo de gases inflamables

Los cilindros que contienen gases inflamables debiesen ser tratados con especial cuidado, en cuanto a su almacenamiento, transporte y utilización. Las principales reglas de seguridad que se recomiendan, a todos estos gases son:

- Almacenar los cilindros con cuidado, siempre en posición vertical, en ambientes frescos y bien ventilados, de preferencia en el exterior, fuera del alcance del sol, y lejos de cualquier fuente de ignición o circuito eléctrico. El cilindro nunca debe calentarse más de 50°C.

- Nunca almacenar gases combustibles junto con gases comburentes, como oxígeno u óxido nitroso.
- Evitar que se golpeen los cilindros, se calienten o reciban electricidad. Recordar que los cilindros vacíos aún contienen gas, por tanto, siempre deben tener su válvula cerrada, con el gorro puesto.
- Usar para cada gas las válvulas, reguladores y conexiones especiales para ese gas. Nunca usar empaquetaduras de goma, cuero ni de ningún material orgánico. No engrasar o aceitar ningún envase, equipo o accesorio para uso con gases combustibles o comburentes.
- Preocuparse de mantener las salidas y conexiones de válvula y regulador siempre limpias, sin polvo ni partículas extrañas.
- Las válvulas y reguladores deben ser abiertos con lentitud, para evitar altas presiones de salida, que pueden incluso incendiar el regulador. Si el hidrógeno sale muy rápido, arderá en contacto con el aire, por lo que en este caso nunca debe abrirse la válvula sin que esté conectado el regulador.
- Use válvulas anti-retroceso en la salida del regulador y en la conexión de los sopletes, con el objeto de prevenir el flujo inverso de los gases, en el caso de aplicación de mezclas con gases combustibles. Ej: (acetileno con oxígeno).
- Si un cilindro tiene escape, márkelo y aíslelo, en el exterior, lejos de toda fuente de ignición. En el caso del hidrógeno tenga especial cuidado, pues arde a alta temperatura sin que se vea su llama.
- La práctica de entreabrir brevemente la válvula de un cilindro antes de poner el regulador, aconsejable en otros gases, nunca debe hacerse en el caso de gases combustibles u oxígeno.
- En recintos de almacenamiento o uso de gases inflamables, señalizar debidamente, con letreros “NO FUMAR”, y mantener en buen estado, equipos adecuados para la extinción de incendios (preferentemente de CO₂ o polvo químico).

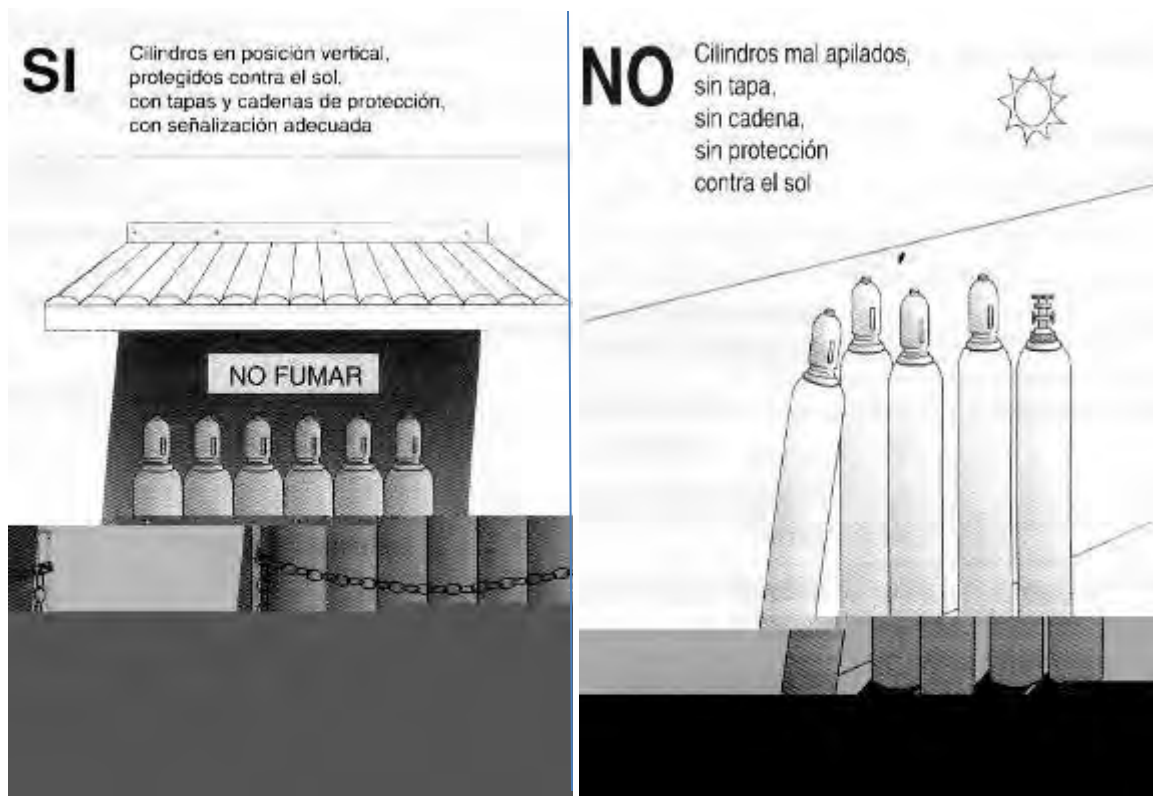


Figura 19. Almacenamiento de gases.

8.5.9. Factores de riesgos en el manejo de gases criogénicos

Las precauciones a usar en el manejo de gases criogénicos son las mismas que para gases comprimidos, salvo dos factores especiales, comunes a todos los gases criogénicos:

1. Su temperatura extremadamente baja.
2. Su gran expansibilidad: pequeños volúmenes de líquido se transforman en grandes volúmenes de gas.

Precauciones ante temperaturas criogénicas

- Nunca tocar con alguna parte desprotegida del cuerpo un recipiente o cañería que contenga gases criogénicos, especialmente si no están aislados; el metal frío puede pegarse a la piel, causando heridas profundas al tratar de desprenderse.
- Proteger los ojos con pantalla facial o gafas protectoras, especialmente el operario que realice traspaso de fluidos de un recipiente a otro.

- Utilizar siempre guantes de asbesto o cuero bien secos, con un broche suelto que permita sacárselos rápidamente si cae o salpica líquido en ellos. Incluso con los guantes puestos, se puede soportar el frío solo por tiempos cortos.

9. LIBERACIÓN DE PRODUCTOS RIESGOSOS

9.1. Liberación intencionada

La **liberación intencionada** corresponde a cualquier situación donde, en forma voluntaria, se libera al medio ambiente sustancias biológicas, químicas y radioactivas potencialmente peligrosas. La liberación intencional puede tener fines terroristas o fines experimentales.

9.1.1. Liberación intencionada con fines terroristas

Los recientes acontecimientos mundiales han mostrado que existen nuevas amenazas a la salud pública a través de la liberación y uso malintencionado de agentes microbiológicos y toxinas, productos químicos potencialmente peligrosos y/o sustancias radioactivas, con el sólo propósito de producir daño a la población. Las instrucciones que aquí se describen, además de reducir la liberación accidental, ayudarán a definir las medidas y procedimientos de seguridad institucional y personal, diseñados para prevenir la pérdida, robo, mal uso, desvío o liberación intencional de patógenos, o partes de ellos, y los organismos productores de toxinas, así como de toxinas y productos químicos tóxicos y radioactivos.

Actualmente la liberación intencionada con fines terroristas está penada por la Ley N°18.314, más conocida como Ley Antiterrorista, que tiene por objeto tipificar conductas o delitos terroristas y establecer penas más graves que los delitos comunes [75]. Desde 2010, se estableció que constituyen delitos terroristas *“los de homicidio, lesiones, secuestro, sustracción de menores, envío de cartas o encomiendas explosivas, incendio y estragos, infracciones contra la salud pública y el descarrilamiento, siempre y cuando el hecho se cometa con la finalidad de producir en la población o en una parte de ella el temor justificado de ser víctima de delitos de la misma especie, sea por la naturaleza y efectos de los medios empleados, sea por la evidencia de que obedece a un plan premeditado de atentar contra una categoría o grupo determinado de personas, sea porque se cometa para arrancar o inhibir resoluciones de la autoridad o imponerle exigencias”* [75].

Particularmente, y para fomentar la transparencia, todos los agentes biológicos con potencial de poder ser usado en bioterrorismo, deben ser debidamente registrados en la Dirección General de Movilización General, según indicaciones de la Ley N°17.798 sobre Control de Armas, Explosivos y Elementos Similares [76].

9.1.2. Liberación intencionada con fines experimentales

Por otra parte, la liberación intencionada con fines experimentales, engloba cualquier experimento con producto comercial en desarrollo que contenga algún compuesto químico potencialmente peligroso, radionúclido, organismos vivos o productos derivados de él, y que se ensaya bajo las siguientes circunstancias [35]:

- En un campo abierto o un ecosistema natural.
- En instalaciones cerradas destinadas a plantas o animales, pero que no tengan certificado que garantice el cumplimiento de las normas de contención correspondientes.
- Cuando los productos son para el uso o consumo humano o animal.

Esta definición incluye, además, a aquellos experimentos que, no obstante, se efectúan en instalaciones con las medidas de contención adecuadas o en lugares con las debidas restricciones, pueden permitir la liberación inadvertida al ambiente del compuesto químico, radionúclido, organismo vivo o productos derivados de él, potencialmente peligrosa.

En el caso de los productos químicos potencialmente peligrosos, existen normativas especiales para la realización de experimentos que realicen ensayos con pesticidas, plaguicidas y fertilizantes.

9.1.2.1 Sustancias de riesgo químico.

El **uso de pesticidas** está regulado por el “Reglamento de pesticidas de uso sanitario y doméstico” Decreto N°157 de 2005 [77]. Dicho Reglamento regula *“las condiciones de registro, autorización, fabricación, importación, almacenamiento, envase, expendio, tenencia, transporte, distribución, promoción, publicidad, aplicación y*

eliminación de pesticidas de uso sanitario y doméstico, así como la manipulación de todos aquellos que puedan afectar la salud de las personas". Corresponderá a las Secretarías Regionales Ministeriales de Salud, dentro de sus áreas de competencia, autorizar la fabricación de los productos plaguicidas de uso sanitario y doméstico y fiscalizar esa actividad como también la venta, distribución, aplicación, manipulación, transporte y eliminación de dichos productos, conforme a las normas del Código Sanitario y del Decreto N°157 de 2005 [77].

El **uso de plaguicidas y fertilizantes** está reglamentado por el Decreto Ley N°3.557 de 1981 [78], que establece normas sobre la protección agrícola y que fue modificada por la Ley N°19.558 de 1998 [79], referida a normas de protección agrícola; Ley N°19.695 de 2000 [80], en materia de venta de fertilizantes a granel; Ley N°20.161 de 2007 [81], referida a disposiciones sobre protección agrícola; Ley N°20.275 de 2008 [82], referida a disposiciones para la protección agrícola con el objeto de corregir la falsedad de la información declarada; y Ley N°20.308 de 2008 [83], referida a la protección a los trabajadores sobre el uso de productos fitosanitarios. En dichas leyes se le confiere al Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) las atribuciones para establecer directrices para el control y fiscalización de plaguicidas y fertilizantes agrícolas, tanto en sus condiciones de uso, manejo y comercio de estos productos a nivel nacional como la evaluación de plaguicidas para su autorización. En materia de fertilizantes, es responsabilidad del SAG corroborar la composición de los elementos nutrientes y acompañantes que estos contienen, muestreando lo que ingresa al país y fiscalizando, además, en el comercio el cumplimiento de la normativa nacional vigente. Los antecedentes, normativas, procedimientos, instructivos, formularios, y registros están disponibles en la página web del SAG [84].

9.1.2.2. Sustancias de riesgo radioactivas

Los estudios ambientales que involucran el uso de materiales radiactivos consideran generalmente isótopos radioactivos naturales o aquellos que, por su concentración de actividad y comportamiento físico de período de desintegración, pueden ser utilizados como trazadores en diferentes estudios como medición de

caudales, migración de componentes del medio ambiente, sin ningún impacto negativo sobre él [85].

Sin embargo, en este capítulo se consideran aquellos materiales o fuentes radiactivas que potencialmente pueden ser usados con fines terroristas, como las llamadas “bombas sucias” que es un término que se utiliza para denominar a los artefactos explosivos que diseminan elementos radioactivos en la atmósfera. Inicialmente se usó este término para calificar a las bombas de fisión de bajo rendimiento, así como a las bombas termonucleares (fisión-fusión) en contraposición con las bombas limpias sin residuos radioactivos.

Pero, últimamente se usa para denominar uno de los posibles tipos de los llamados dispositivos de dispersión radiológica (DDR).

Según el Organismo Internacional de Energía Atómica, la Nuclear Regulatory Commission Americana (NRC) y otros estudios, los radioisótopos con más posibilidad de ser usados en bombas sucias son:

Cobalto60 (Co^{60}), selenio75 (Se^{75}), estroncio90 (Sr^{90}), cesio137 (Cs^{137}), iterbio169 (Yb^{169}), tulio170 (Tm^{170}), iridio192 (Ir^{192}), polonio210 (Po^{210}), radio226 (Ra^{226}), plutonio239 (Pu^{239}), americio241 (Am^{241}), curio244 (Cm^{244}), californio252 (Cf^{252}) [86].

Por otra parte, el antecedente que se mantiene en la Base de Datos del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) referida a tráfico ilícito de material nuclear, señala que se han documentado más de 2000 incidentes entre 1993 y 2012 que involucran embargo de materiales fuera de control regulatorio. Esta situación ha originado el surgimiento de la llamada forensica nuclear, la cual está definida en la referencia IAEA NSS2 como el análisis científico comprensivo de evidencia física, biológica y documental en el contexto de la Ley civil, criminal o de la Ley internacional. Para ello, trata de establecer conexiones entre personas, lugares, cosas y eventos, siendo una subdisciplina de la ciencia forense referida en forma particular al análisis de material radioactivo o nuclear, enfocado a dar respuestas como: a qué tipo de material corresponde, cómo, cuándo y dónde fue fabricado o producido y a qué usos estaba destinado.

De los 2331 incidentes registrados a la fecha, 419 corresponden a posesión no autorizada de material nuclear o radioactivo y estar relacionado con actividades criminales. Alrededor de 130 involucraron la venta de material nuclear o radioactivo, y 16 de ellos tenían relación con plutonio y uranio de Alto Enriquecimiento (HEU). Por otra parte, otros 615 corresponden a robo o pérdida de materiales radioactivos de fuentes de Cs137, Ir192, Co60 y Am241.

Por esta razón, el OIEA reconoce que la disciplina forense nuclear es una herramienta efectiva para determinar el origen de algún material nuclear u otros materiales radioactivos detectados, en proveer evidencia para la prosecución de actos de tráfico ilícito y uso malicioso, por lo que estimula sus estados miembros a trabajar en colaboración mutua y con el OIEA para desarrollar e incrementar sus capacidades en la disciplina forense nuclear.

Todo lo antes mencionado, dice relación con el estricto control del material radiactivo que se debe establecer desde su incorporación al laboratorio hasta la eliminación o disposición final, especialmente de aquellas fuentes o materiales radioactivos señalados con anterioridad, como potencialmente de uso en acciones malévolas [87].

9.1.2.3. Organismos genéticamente modificados (OGM)

La **liberación intencionada de OGM** está normada por la Resolución Exenta N°1.523 de 2001 [88], referida al establecimiento de normas para la internación e introducción al medio ambiente de Organismos Vegetales Vivos Modificados de Propagación, modificada por la Resolución Exenta N°4.468 de 2010 [89]. Caben dentro de este tipo de vigilancia y registro, además de las medidas destinadas a la autorización de importación de microorganismos patógenos genéticamente modificados, o de actividad biológica desconocida, como también animales y plantas genéticamente modificadas que son remitidos para su estudio a algún centro especializado.

La Resolución 1.523/2001 [88], le confiere al SAG la responsabilidad de establecer las normas y procedimientos para la importación y liberación de los OGM, bajo condiciones reguladas de bioseguridad. El SAG ha implementado un sistema de

análisis de riesgo para la liberación controlada al medio ambiente de los OGM. Están igualmente sometidos a este tipo de vigilancia y sujetos a las normas respectivas, los experimentos con microorganismos, animales, o plantas genéticamente modificadas que por razones especiales se solicitan efectuar en lugares diferentes a los laboratorios o Instituciones de origen. Los antecedentes, normativas, procedimientos, instructivos, formularios, y registros están disponibles en la página web del SAG [48].

9.1.2.4 Estudios pre-clínicos y de campo en voluntarios con vacunas vivas atenuadas y/o genéticamente modificadas

Un caso particular lo constituyen los estudios pre-clínicos y de campo en voluntarios con vacunas vivas atenuadas y/o genéticamente modificadas. Estos estudios requieren además del cumplimiento de la Ley N°20.120 de 2006 [90], y la Ley N°20.850 de 2015 [91], la cual establece otros requerimientos no sólo para resguardar la seguridad física de los participantes, sino también para resguardar su autonomía y la continuidad gratuita de los tratamientos recibidos. Uno de los requerimientos es la expresión de voluntariedad a través de la firma del consentimiento informado como registro que los voluntarios o sus representantes legales han aceptado ser parte del estudio.

El rol que le compete a los CIBs respecto de la **liberación intencionada** es evaluar todos aquellos proyectos que impliquen la liberación de cualquier OGM catalogado como no inofensivo. Si las condiciones de liberación son controladas (Ej. Viabilidad en medio ambiente limitada por mutaciones inhabilitantes) y si de acuerdo con las autoridades respectivas no hay riesgo, el CIB podrá autorizar dicho estudio bajo vigilancia apropiada.

Se estiman a lo menos tres circunstancias de excepción de las normas de control antes señaladas, aun cuando ello siempre debe estar sujeto a revisiones periódicas, y ellas son:

- Cuando la manipulación genética ensayada no permite el uso de ADN híbrido obtenido con técnicas de recombinación, como pueden ser las técnicas de fusión celular.

- Cuando se utiliza un ADN proveniente de igual especie que es incorporado mediante mecanismos fisiológicos naturales.
- Cuando el ADN aislado no contiene microorganismos viables.

El hecho que un experimento se encuentre dentro de alguna de estas excepciones, no excluye las consultas a los organismos pertinentes, para un apropiado registro.

9.2. Liberación accidental

La **liberación accidental** se refiere a la liberación que ocurre en forma involuntaria o no deliberada. En este contexto, todas las recomendaciones contenidas en este manual tienen como propósito describir los principios, tecnologías y prácticas de contención que se aplican para prevenir la exposición no intencional a agentes biológicos tales como patógenos, organismos modificados genéticamente y toxinas, agentes químicos potencialmente peligrosos, sustancias radioactivas o su liberación accidental. Consecuentemente, el fin último del manual es reducir al mínimo la ocurrencia de una liberación accidental.

10. ANEXOS

10.1. Anexo 1. Modelo de formulario de bioseguridad. Basado en el Formulario de Bioseguridad del Comité de Seguridad, Pontificia Universidad Católica. Elaborado por Valentina Seguel.



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CHILE

COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE SEGURIDAD EN LA INVESTIGACIÓN

1.- INFORMACIÓN GENERAL

Título de la Investigación	
Número asignado	

a) Equipo de Investigación (Copie y pegue tantas filas como necesite)				
Rol	Nombre	Categoría académica	Institución	Email
Investigador Principal				
Académico Responsable				

b) Finalidad de la Actividad. ¿Qué pretende conseguir con la investigación? Si es necesario incluya hipótesis y objetivos del proyecto. Máximo 600 palabras

c) Metodología. Breve resumen del procedimiento experimental a realizar.(Prácticas, técnicas y métodos) Máximo 600 palabras.

d.-ELIMINACIÓN DE RESIDUOS	
Indique método de separación de residuos radioactivos o mixtos que se producirán en esta investigación. Procedimientos que realiza el equipo de investigación antes de ir al acopio).	
Indique el método de separación para la eliminación de residuos químicos que se producirán en esta investigación. Categorías en las que se separan los químicos antes de ser llevados al acopio general	
Indique el método de separación para la eliminación de residuos biológicos que se producirán en esta investigación. Incluya residuos cortopunzantes, líquidos de cultivo, líquidos de muestras y sólidos (cadáveres, biopsias, etc)	
Indique dónde se realizará el acopio de los residuos y cómo se realizará el retiro desde el laboratorio y desde la Universidad.	
Químicos	
Biológicos	
Radioactivos	



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CHILE

COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

e) Protección del embarazo. Identifique claramente si en la investigación existen riesgos para el desarrollo de un embarazo. En caso que si existen describa las medidas de seguridad que se tomarán en su laboratorio si una de sus integrantes se encuentra embarazada y durante el periodo de lactancia.

Complete esta sección aun cuando de momento no existan mujeres en el equipo de investigación

f) Anexos Marque con una X los documentos que anexados

☐	Certificaciones de capacitación en seguridad
☐	Autorización de funcionamiento para instalaciones donde se trabaja con radioisótopos.
☐	Licencias de operador para trabajar con radioactividad.
☐	Licencias para trabajar con calderas y generadores de vapor.
☐	Autorizaciones gubernamentales para ingresar productos específicos al país (tóxicos, virus, etc.)
☐	Otro :

g) Información adicional. Proporcione aquí cualquier información adicional que le parezca importante para la evaluación del proyecto.

2. RADIACIONES

☐

SI

☐

NO (Siga en la sección 3)

A. LABORATORIOS. Indique el (los) laboratorio(s) e instituciones dónde se realizará el trabajo con radiaciones. (En caso de tratarse de un laboratorio no UC, identifique laboratorio y persona que manipulará los radioisótopos y siga en la sección 3)

B.- USO DE RADIACIONES NO IONIZANTES.

Tipo. Marque con una X	Medidas de seguridad.
☐ UV	
☐ Láser	
☐ Microondas	

Siga completando esta sección sólo si utilizará radiaciones ionizantes, de lo contrario pase a la sección 3.

C.- USO DE RADIACIONES IONIZANTES. Marque con una X la opción que corresponda

☐	α	☐	$\beta +$	☐	Protones	☐	Neutrones	☐	Radiación electromagnética ionizante (rayos x o rayos γ)
		☐	$\beta -$						

Si utilizará radioisótopos conteste:

Copie y pegue tantas filas como necesite

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Documento elaborado por Valentina Seguel con apoyo del Comité Institucional de Seguridad en Investigación PUC



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CHILE

COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

Radioisótopo	Características de uso	Identificar actividad inicial del radioisótopo y fecha	Tiempo de exposición estimada por usuario al año

Si utilizará equipos generadores de radiación ionizante conteste: Copie y pegue tantas filas como necesite

Equipo. Identifique el máximo voltaje de trabajo (kVp)	Zona de trabajo (Controlada o no controlada)

C.1 AUTORIZACIONES REQUERIDAS POR EL DECRETO SUPREMO N° 133 DE 1984 (Publicado en el Diario Oficial 23.08.84)

Autorización de operación de la instalación.

Copie y pegue tantas filas como necesite

Categoría de la Instalación (primera, segunda o tercera)	¿La instalación cuenta con autorización de operación? (SEREMI o CCHEN)	Responsable de la instalación
	SI	
	NO	

Operadores que trabajarán con radiaciones.

Copie y pegue tantas filas como necesite

Nombre	¿Registro de Dosimetría?	¿Adjunta autorización de desempeño?
	SI	SI
	NO	NO

C.2 MEDIDAS DE SEGURIDAD CONTRA LAS RADIACIONES IONIZANTES.

Elementos de protección Personal

Prácticas de trabajo seguro

Institución que realiza el servicio de dosimetría personal externa autorizado por el [PECDPE \(www.isp.cl\)](http://www.isp.cl)

Del almacenamiento y trabajo con radioisótopos

C.3 TRANSPORTE En caso de transportar material radioactivo indique las medidas de seguridad que se aplicarán para el proceso.

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Documento elaborado por Valentina Seguel con apoyo del Comité Institucional de Seguridad en Investigación PUC



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CHILE

COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

3. REACTIVOS QUÍMICOS

☐

SI

☐

NO (Siga en la sección 4)

A. LABORATORIO. Identifique el(los) Laboratorio(s) e Instituciones dónde se realizará el trabajo con los reactivos. (En caso de tratarse de un laboratorio no UC, identifique y siga en la sección 4)

B. CARACTERÍSTICAS DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS

Identifique nombre y peligrosidad de los reactivos con los que trabajará en esta investigación.

Guíese por los pictogramas que se presentan, en caso que sus reactivos tengan otros pictogramas deberá homologar la peligrosidad a las categorías actuales y para esto deberá consultar el etiquetado del producto.

1	Explosivo 	2	Comburente 	3	Inflamables 	4	Gas a presión 	5	Corrosivo 
6	Tóxico agudo 	7	Peligro grave para la salud 	8	Peligro para la salud 	9	Peligro para el medio ambiente 		

Nombre los reactivos con que trabajará en esta investigación e identifique la peligrosidad asociada según el número casilla correspondiente. Recuerde que un reactivo puede tener más de una clasificación.

Nombre (Copie y pegue las filas que necesite)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

C. MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL MANEJO DE LOS REACTIVOS QUÍMICOS

Elementos de protección personal de uso obligatorio en el laboratorio

Reactivos que serán manipulados bajo campana de extracción o con protección respiratoria (indique filtro)

Otras medidas de seguridad

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Documento elaborado por Valentina Seguel con apoyo del Comité Institucional de Seguridad en Investigación PUC



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE
COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

--

E. En caso de transportar reactivos indique las medidas de seguridad que se aplicarán para el proceso.

☐ SI ☐ NO (Siga en la sección 5)

--

4. MUESTRAS DE ORIGEN HUMANO

A. UNIDAD DE TOMA DE MUESTRAS HUMANAS

Si la toma de muestras se realizará en dependencias de la Institución elija una alternativa:

☐	Tiene autorización sanitaria. Identifique:
☐	Se realiza en pabellón.:
☐	Se realiza en sala de procedimientos. Especifique cuál:
☐	No tiene autorización sanitaria. Especifique el recinto:

Si la toma de muestras NO se realiza en dependencias de la Institución indique:

Lugar donde se realizará la toma de muestras (Institución, domicilio, otro):

B. CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS HUMANAS. Copie y pegue tantas filas como necesite

Tipo de Muestra (orina, semen, sangre, suero, placenta, etc.)	Trabajo a realizar con la muestra

C. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS HUMANAS.

Identifique dónde se realizará el procesamiento de las muestras

--

¿Qué medidas de seguridad se tomarán para trabajar con muestras de origen humano? Incluya elementos de protección personal, medidas para disminuir aerosoles, planes en caso de derrames, lugar de trabajo en el laboratorio, etc.

--

¿Existirá un programa de inmunización para los integrantes del laboratorio?

--

D. En caso de transportar las muestras indique las medidas de seguridad que se aplicarán para el

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Documento elaborado por Valentina Seguel con apoyo del Comité Institucional de Seguridad en Investigación PUC



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE
COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

proceso.

5. MUESTRAS DE ANIMALES O ANIMALES

☐ SI

☐ NO

(Siga en la sección 6)

A. LABORATORIO (En caso de tratarse de un laboratorio o centros fuera de la Institución, identifíquelos y siga en la sección 6. Cultivo celular)

Indique el bioterio de donde provienen los animales

Indique el (los) Laboratorio(s) e Instituciones dónde se realizará la toma de muestras de origen animal

Indique el (los) Laboratorio(s) e Instituciones dónde se realizará el procesamiento de muestras de origen animal

B. CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS ANIMALES. Copie y pegue tantas filas como necesite

Animal/ Tipo de Muestra (orina, semen, sangre, suero, placenta, etc.)	Trabajo a realizar con animal infectado/ muestra

C. MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL MANEJO DE ANIMALES/ MUESTRAS ANIMALES. Incluya elementos de protección personal, medidas para disminuir aerosoles, planes en caso de derrames, lugar de trabajo en el laboratorio, etc.

D. TRANSPORTE. En caso de transportar las muestras/animales indique las medidas de seguridad que se aplicarán para el proceso.

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Documento elaborado por Valentina Seguel con apoyo del Comité Institucional de Seguridad en Investigación PUC



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CHILE

COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

☐

SI

☐

NO (Siga en la sección 7)

6. CULTIVO CELULAR

A. LABORATORIO (En caso de tratarse de un laboratorio o centros fuera de la Institución, identifíquelos y siga en la sección 7. Microorganismos)

--

B. CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO Copie y pegue tantas filas como necesite

Nombre y Tipo de cultivo (Primario o línea celular)	Características del cultivo (wild type, infectado, transformado, etc.)	Nivel de bioseguridad

C. MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL MANEJO DE CULTIVO CELULAR. Incluya elementos de protección personal, medidas para disminuir aerosoles, planes en caso de derrames, lugar de trabajo en el laboratorio, etc

--

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Documento elaborado por Valentina Seguel con apoyo del Comité Institucional de Seguridad en Investigación PUC



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CHILE

COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

7. MICRORGANISMOS (MO)

☐

SI

☐

NO (Siga en la sección 7)

(Incluye virus, bacterias, microalgas, levaduras y/o hongos)

A. LABORATORIO. Identifique el (los) Laboratorio(s) e Instituciones dónde se realizará el trabajo con microorganismos. (En caso de tratarse de un laboratorio fuera de la Institución, identifique y siga en la sección 8. OGM)

B. CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS

¿Se utilizarán microorganismos que producen enfermedades de notificación obligatoria? Para conocer esta lista visite www.sag.cl. Recuerde que necesitará autorización expresa del SAG para trabajar con microorganismos exóticos

NO		SI especifique	
¿Qué microorganismos utilizará?			
Copie y pegue tantas filas como necesite			
Especie	Grupo de Riesgo	Método de obtención (origen comercial, aislado de animal, aislado de muestras humanas)	Trabajo a realizar con el MO

C. MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA TRABAJAR CON MICRORGANISMOS Incluya elementos de protección personal, medidas para disminuir aerosoles, planes en caso de derrames, lugar de trabajo en el laboratorio, etc.

C.1. INFORMACIÓN ADICIONAL PARA TRABAJAR CON LENTIVIRUS

Características del lentivirus

Medidas de seguridad para trabajar con lentivirus

D. TRANSPORTE. En caso de transportar microorganismos indique las medidas de seguridad que se aplicarán para el proceso.



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE **COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN**

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

8. ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS (OGM)

Organismo cuyo material genético ha sido modificado de alguna manera que no se produce naturalmente.

☐ SI, obtenidos comercialmente o donados ☐ SI, producidos en el laboratorio ☐ No

A. LABORATORIO. Identifique el (los) Laboratorio(s) e Instituciones dónde se realizará el trabajo con OGM

(En caso de tratarse de un laboratorio fuera de la Institución, sólo identifique el laboratorio)

B. PERMISOS ESPECIALES

Marque con una X si su propuesta de investigación contempla alguno de los elementos

☐	Experimentos o ensayos en un campo abierto o un ecosistema natural.
☐	Importación plantas transgénicas, de microorganismos patógenos genéticamente modificados, o de actividad biológica desconocida.
☐	Experimentos o ensayos con microorganismos, o plantas transgénicas que por razones especiales se solicitan efectuar en lugares diferentes al laboratorio.

C. MODIFICACIONES DE LÍNEAS CELULARES Y/O ANIMALES

Finalidad de la modificación	
Descripción de la modificación	
Organismo receptor	
Organismo donante	
OGM	
Tipo de modificación	
Tipo de vector	
Medidas de seguridad y contención	

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Documento elaborado por Valentina Seguel con apoyo del Comité Institucional de Seguridad en Investigación PUC



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CHILE

COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

Sólo si la propuesta de investigación contempla la modificación de plantas, virus, bacterias u hongos complete los ítems D,E,F

D. CARACTERÍSTICAS DEL ORGANISMO RECEPTOR Organismo que sufrirá la modificación genética, como bacteria wild type, animal al que se infectará con un virus, línea celular que se le introducirá un gen, etc.)
<u>Nombre Científico, Nombre Común y Taxonomía (Línea celular, bacteria, hongo, animal, planta, virus, etc):</u>
<u>Hábitat natural del organismo receptor y distribución geográfica en el que se encuentra:</u>
<u>Indique el origen del organismo receptor: (Aislado en el laboratorio, comercial, donado por otro centro)</u>
<u>Existen posibles modificaciones genéticas anteriores:</u>
<u>¿El organismo receptor se considera patógeno antes de ser modificado genéticamente? Si se considera patógeno indique la especie para la cual es patógeno, en caso de ser el ser humano indique grupo de riesgo y método de patogenicidad</u>
<u>El organismo receptor es capaz de sobrevivir fuera de las condiciones de cultivo (Si la respuesta es sí especifique)</u>

E.- CARACTERÍSTICAS DEL ORGANISMO DONANTE
<u>Nombre Científico, Nombre Común y Taxonomía (Línea celular, bacteria, hongo, animal, planta, virus, etc):</u>
<u>¿El organismo donante se considera patógeno? Indique para qué especie es patógeno, en caso de ser el ser humano indique grupo de riesgo y método de patogenicidad</u>
<u>¿Qué gen/genes que se obtendrán del organismo donante?</u>
<u>¿Qué función cumple el gen en el organismo donante y para qué codifica?</u>
<u>¿Las secuencias insertadas están implicadas de alguna forma en las propiedades patógenas o nocivas del donante?</u>
<u>¿El organismo donante y el receptor intercambian material genético de forma natural?, si su respuesta es sí especifique</u>

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Documento elaborado por Valentina Seguel con apoyo del Comité Institucional de Seguridad en Investigación PUC



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CHILE

COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e Institución

F.-CARACTERÍSTICAS DE LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

¿Qué tipo de modificación realizará? (delección, inserción estable o transiente, etc.)

¿Cuál es la finalidad de la modificación?

¿Qué técnica utilizará para realizar la modificación genética? (infección, transfección, etc.)

¿Se utilizará un vector en el proceso de modificación?

Si la respuesta es sí identifique:

Tipo e identidad del vector, y sus características	
Si se trata de un virus indique si este es defectivo en su replicación. (Puede adjuntar mapa de restricción del vector)	
Si se trata de un bacteriófago indicar si se han inactivado sus propiedades lisogénicas	
Hospederos naturales del vector:	
Puede el vector transferir marcadores de resistencia a otros organismos (especifique si su respuesta es si)	

G.-CARACTERÍSTICAS DEL OGM Para cada ítem indique efecto observado o el efecto esperado si aún no ha producido el OGM

El OGM es diferente del receptor en lo que respecta a: Marque con una x si corresponde

Capacidad de supervivencia fuera de condiciones de cultivo. Especifique

Modo o tasa de reproducción. Especifique

Patogenicidad para el ser humano. Especifique

Posibles efectos sobre el medio ambiente. Especifique

¿Cuál es la estabilidad genética del OGM, estado y secuencia del inserto después de un cierto número de generaciones?

¿Cuál es la posibilidad de transferencia de material genético a otros organismos?

Describa los métodos de identificación del OGM para diferenciarlo del receptor de origen:

Indique el volumen o cantidad máxima de OGM a producir y/o utilizar: (Volumen en caso de MO, Número en caso de plantas o animales)

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Documento elaborado por Valentina Seguel con apoyo del Comité Institucional de Seguridad en Investigación PUC



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CHILE

COMITÉ INSTITUCIONAL DE SEGURIDAD EN INVESTIGACIÓN

Cualquier reproducción total o parcial de este documento debe hacer referencia a los autores e institución

H.- MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL MANEJO DE OGM

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Documento elaborado por Valentina Seguel con apoyo del Comité Institucional de Seguridad en Investigación
PUC

10.2. Anexo 2. Documento de autoinstrucción.



INDUCCIÓN DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

A. Reglas básicas de seguridad en el laboratorio:

1. Utilice siempre los elementos de protección personal. Aprenda de cómo usarlos correctamente. El uso permanente de delantal es OBLIGATORIO en todas las dependencias del laboratorio.
2. No trabaje sólo en el laboratorio.
3. Mantenga limpio el lugar de trabajo.
4. No deje ningún objeto ajeno al trabajo (libros, cuadernos, carteras, etc.) encima del mesón.
5. No coma ni beba en las zonas de trabajo ubicadas en el laboratorio, tampoco manipular lentes de contacto, maquillarse o aplicarse cremas en las áreas de trabajo.
6. No guardar alimentos o bebidas en refrigeradores destinados al almacenamiento de muestras o reactivos.
7. No utilice material de laboratorio para manipular o consumir alimentos.
8. Realice las actividades de laboratorio sólo en los lugares que están destinados especialmente para ellos.
9. Registre sus datos de contacto con el encargado del laboratorio.
10. Es OBLIGATORIO participar en todas las actividades de capacitación de emergencias, incluyendo los simulacros.
11. Conozca la ubicación del extintor, y averigüe los procedimientos correctos de uso.
12. Mantenga las llaves del agua y del gas cerrado, excepto cuando las esté utilizando.
13. Deseche el material biológico, sustancias químicas, radionúclidos y material cortopunzante sólo en los recipientes o contenedores debidamente dispuestos para ello.
14. No tire nunca desechos insolubles, tales como papeles de filtro, fósforos o similares en los lavaderos.
15. Antes de salir del laboratorio, sáquese el delantal, asegúrese de dejar todo apagado y lávese bien las manos con agua y jabón.

B. Precauciones en el manejo de sustancias biológicas

1. Conozca cual es la peligrosidad de la sustancia biológica que manipulará y las medidas necesarias para proteger su integridad.
2. Dependiendo del material biológico, infórmese sobre su almacenamiento, transporte y desecho.
3. Si va a manipular animales, debe tomar el curso de manejo y cuidado de animales.
4. Si va a manipular muestras humanas, debe estar vacunado contra la hepatitis B.
5. No manipule la autoclave. Sólo lo puede realizar si tiene la capacitación y está debidamente certificado.



UNIVERSIDAD DE CHILE

Comité de Bioseguridad
Administración Conjunta Campus Norte

C. Precauciones en el manejo de productos químicos:

1. Identifique nombre y peligrosidad de las sustancias químicas con que trabajará.
2. No permita que se pongan en contacto con su piel o su ropa.
3. No pruebe/ingiera ningún producto químico, a menos que se le diga específicamente.
4. Evite inhalar vapores de solventes. Si quiere tomar el olor de alguna sustancia para usarlo como criterio de identificación, hágalo con precaución y colocando el frasco a unos 15 cm de la nariz.
5. Limpie cualquier porción de líquido que se derrame. Si se trata de un ácido fuerte, lave bien con agua, neutralice después con bicarbonato o carbonato de sodio y vuelva a lavar con agua.
6. El trabajo con sustancias irritantes debe realizarse en campana.
7. Revise la forma correcta de almacenar las sustancias químicas. Algunos reactivos y sustancias inflamables, deben almacenarse en gabinetes de seguridad, de acero y/o refrigerados (refrigerador a prueba de explosiones).
7. Utilice la tabla de incompatibilidades químicas para saber cómo desechar las sustancias químicas.
8. Nunca se debe agregar agua a los ácidos concentrados: esto genera una reacción exotérmica, la cual puede provocar la ruptura del receptáculo y causar derrames o salpicaduras. Agregar siempre el ácido suavemente al agua, por escurrimiento de las paredes internas del receptáculo.

D. Precauciones en el manejo de radionúclidos y radiaciones ionizantes:

1. Debe realizar el curso de manejo y protección radiológica antes de trabajar con radionúclidos o equipos generadores de radiaciones ionizantes.
2. Si está embarazada, informe inmediatamente al encargado del laboratorio o a su tutor.
3. Utilizar todos los elementos de protección personal y protocolos de seguridad en el manejo de radionúclidos y aparatos que generen radiaciones ionizantes.
4. Se debe usar protección adecuada cuando se utilice luz UV germicida en áreas de trabajo, ejemplo en gabinetes de bioseguridad clase II, cabinas de flujo laminar y transiluminadores.

E. Precauciones para evitar incendios:

1. Si usa un mechero:
 - No caliente nunca un solvente inflamable de punto de ebullición inferior 100°C (por ejemplo: metanol, etanol, acetona, benceno, éter etílico, etc.) en un recipiente abierto.
 - Cuando tenga que calentar un líquido inflamable en una destilación a reflujo, asegúrese que todas las conexiones estén bien ajustadas.
 - No trasvasije ni manipule líquidos inflamables cerca de una llama.
2. No caliente nunca un sistema cerrado aunque vaya provisto de un condensador.
3. Siempre que realice una operación exotérmica tenga preparado un baño de agua fría o de hielo para poderla controlar.



4. No guarde los solventes inflamables en vasos abiertos, sino que en recipientes tapados y manténgalos lejos de cualquier mechero encendido.
5. No deje los frascos con solventes inflamables en el mesón de trabajo. Colóquelos en la estantería destinada para ello.
7. No vierta líquidos inflamables en los desagües. Hágalo en el recipiente destinado para ello.
8. Familiarícese con la ubicación del extintor más próximo y aprenda a usarlo

F. En caso de accidente

Accidente	Procedimiento
Cortes	Lavar la herida con abundante agua. Si han quedado trozos de vidrio retirar con cuidado y dejar salir un poco de sangre. Lavar y desinfectar con agua oxigenada de 10 volúmenes (o alcohol) y cubrir la herida con un apósito protector (o vendas, colocando previamente sulfatiazol en la zona afectada). No volver a trabajar sin haber protegido la herida. Si emana abundante sangre puede deberse a un corte en vena o arteria, en tal caso comprimir la herida y consultar a un médico.
Quemaduras	Lavar con abundante agua y hielo. En caso de quemadura severa debe concurrir a centro asistencial.
Fuego	<i>En Laboratorio:</i> No arrojar agua, lo más indicado es el uso adecuado de extintores (se deben accionar con dirección a la base del fuego), cerrar llaves de paso de gas y retirar solventes. <i>En las Ropas:</i> NO CORRA, gire sobre sí mismo para sofocar llamas. Proteger la cabeza.
Contacto con agentes corrosivos	Lavar con abundante agua, a menos que se especifique otra cosa. ÁCIDOS: lavar con solución saturada o pasta de bicarbonato de sodio y luego con abundante agua. BASES: lavar con ácido acético 4% o con ácido bórico.
Contacto con agentes corrosivos en ojos	Lavar la parte externa del ojo con abundante agua, luego abrir el ojo y lavar primero con agua y luego con: -solución de bicarbonato de sodio 1% si se trata de un ácido. -solución de ácido bórico 1% si se trata de una base. Ayudarse con un vasito ocular en los lavados.
Ingestión de sustancias tóxicas	ÁCIDOS: enjuagar la boca con abundante cantidad de agua. BASES: enjuagar con mucha agua, luego tomar agua con jugo de limón o solución diluida de ácido cítrico y finalmente tomar leche. SALES DE METALES PESADOS: tomar leche o clara de huevo. COMPUESTOS DE MERCURIO: tomar inmediatamente un emético.



Declaro que he sido informado acerca de los riesgos en las labores que desarrollaré en el laboratorio (Art. 21 D.S. N°40) y sobre las medidas preventivas que deberé aplicar en el desempeño de mis actividades en el mismo, así como las medidas de prevención que debo adoptar para evitar riesgos.

Declaro que he sido informado sobre la ley N°16.744 “sobre accidentes laborales y enfermedades profesionales”, así como sus respectivos decretos en materia de prevención de riesgos y enfermedades profesionales.

Nombre y Firma:

Fecha:

10.3. Anexo 3. Gabinetes de bioseguridad

EQUIPO	PELIGRO EVITADO	CARACTERÍSTICAS DE SEGURIDAD
Cámaras de Seguridad Biológica		
- Clase I	Aerosoles y salpicaduras	• Flujo mínimo de aire hacia el interior (velocidad frontal) en la abertura de trabajo. Filtración adecuada de aire expulsado. • No protege el producto.
- Clase II	Aerosoles y salpicaduras	• Flujo mínimo de aire hacia el interior (velocidad frontal) en la abertura de trabajo. Filtración adecuada de aire expulsado. • Protege el producto
- Clase III	Aerosoles y salpicaduras	• Contención máxima • Protege el producto si se incluye flujo de aire laminar

10.4. Anexo 4: Ejemplo de ficha de seguridad de agentes infecciosos y niveles de riesgo: Hantavirus.



Government
of Canada

Gouvernement
du Canada

[Home](#) → [Public Health Agency of Canada](#) → [Laboratory Biosafety and Biosecurity](#)

→ [Pathogen Safety Data Sheets and Risk Assessment](#)

Pathogen Safety Data Sheets: Infectious Substances – Hantavirus spp.

PATHOGEN SAFETY DATA SHEET - INFECTIOUS SUBSTANCES

SECTION I - INFECTIOUS AGENT

NAME: *Hantavirus* spp.

SYNONYM OR CROSS REFERENCE: Old world Hantavirus, New world Hanta virus, Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS (Hemorrhagic fever with renal syndrome)), hantavirus pulmonary syndrome (HPS (hantavirus pulmonary syndrome)), Korean hemorrhagic fever (KHF (Korean hemorrhagic fever)), epidemic hemorrhagic fever, hemorrhagic nephrosonephritis ^{1, 2}.

CHARACTERISTICS: Hantaviruses belong to the family Bunyviridae. They are enveloped viruses about 100 nm in diameter with a tripartite single-stranded negative sense RNA genome, enclosed within a spherical capsid ^{2, 3}. Hantaviruses can be divided into three groups, according to the taxonomic assignment of their principle hosts: 1) Muridae (old world rats and mice); 2) Arvicolinae (voles and lemmings); 3) Sigmodontinae (New world rats and mice) ³. There are several species of Hantavirus which are pathogenic to humans, including Puumala, Dobrava-Belgrade, Hantaan, Seoul, Andes, Bayou, Black Creek Canal, Laguna Negra, New York, and Sin Nombre virus ³.

SECTION II - HAZARD IDENTIFICATION

PATHOGENICITY/TOXICITY:

Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS (Hemorrhagic fever with renal syndrome)): HFRS can manifest as mild, moderate or severe disease, depending upon the causative virus ⁴. The clinical course can be divided into five phases: prodrome (or febrile), hypotensive, oliguric, diuretic, and convalescent ^{3, 4}. The prodrome begins with high fever, chills, headache, blurred vision, malaise, and anorexia, followed by abdominal or lumbar pain, gastrointestinal symptoms, facial flushing, petechiae, and an erythematous rash. This phase typically lasts 3 to 7 days ³. The hypotensive phase lasts several hours to many days. It is characterized by the sudden onset of hypotension which may progress to shock and hemorrhagic manifestations. The oliguric phase

typically lasts 3 to 7 days, and, in this time, the blood pressure may return to normal or become high, urinary output falls dramatically, and severe haemorrhage may occur ³. Spontaneous diuresis indicates the beginning of recovery. The case fatality rate is 5 to 15% ⁵.

Hantavirus pulmonary syndrome (HPS (Hantavirus pulmonary syndrome)): There are four clinical phases: prodrome, cardiopulmonary, diuresis, and convalescence. The prodrome phase is characterized by fever, myalgia and malaise, and other symptoms, including headache, dizziness, abdominal pain, and gastrointestinal symptoms, typically lasting 3-6 days. This is followed by the rapidly progressive cardiopulmonary phase, characterized by non-cardiogenic pulmonary edema, hypoxemia, cough, pleural effusion, gastrointestinal symptoms, tachypnea, tachycardia, myocardial depression, and cardiogenic shock. Hypotension and oligouria may occur. The diuresis phase involves rapid clearance of pulmonary edema and resolution of fever and shock ²⁻⁴. The case fatality is around 30% ⁴.

EPIDEMIOLOGY: Hantaviruses occur worldwide, with the distribution of specific viruses limited to the habitat of their rodent hosts ^{3, 5}. For example, Hantaan virus, which causes a severe form of HFRS, is endemic in Russia and China, and Andes virus is responsible for HPS in the New World ¹⁻³. Approximately 150,000 to 200,000 cases of HFRS occur each year world wide, most of which occur in China ^{3, 4}. Depending upon the virus, the case fatality can range from <1% to 12% ⁴. HPS is more common in the New World, with approximately 200 cases per year, and the average case fatality rate 30% ⁴. Incidence rates in different countries, however, fluctuate with the population of rodent hosts. Infections occur predominantly in rural areas, although some viruses (e.g., Seoul virus) occur in urban areas. The majority of Hantavirus infections occur in males and in individuals between the ages of 20-40 ⁴. Trappers, hunters, forestry workers, farmers, and military personnel have a higher risk of contracting the disease ^{2, 4}.

HOST RANGE: Humans, and several species of rodents (voles, mice, rats) ^{3, 6}.

INFECTIOUS DOSE: Unknown.

MODE OF TRANSMISSION: Transmission occurs mainly by inhalation of aerosolized droplets of urine, saliva, or respiratory secretions from infected rodents or of aerosolized particles of feces, dust, or other organic matter carrying the infectious virus ^{1, 3}. They may also be transmitted by rodent bites (however, few patients contracting hantaviruses report rodent bites prior to symptom development), ingestion of contaminated food or water, and direct contact of cutaneous injuries or mucous membranes with the infectious virus ¹⁻³.

INCUBATION PERIOD: 2 to 4 weeks (range from few days to 2 months) for HFRS; and 14-17 days for HPS ^{3, 4}.

COMMUNICABILITY: Person-to-person transmission is very rare, but has been observed for Andes virus during an outbreak in Southern Argentina ^{1, 7}.

SECTION III - DISSEMINATION

RESERVOIR: Small rodents (mice, rats and voles) serve as the reservoirs of Hantaviruses ¹⁻³.

ZOONOSIS: Yes, transmitted from rodents to humans ¹ ³. Puumala virus – bank vole (*Myodes glareolus*, formerly *Clethrionomys glareolus*) in northern and central Europe; Hantaan virus – striped field mouse (*Apodemus agrarius*) in east Asia; Dobrava virus – yellow-necked mouse (*A. flavicollis*) and striped field mouse (*A. agrarius*) in southern Europe; Seoul virus – Norway rat (*Rattus norvegicus*) worldwide; Sin nombre virus – deer mouse (*Peromyscus maniculatus*) in North America; Laguna Negra virus – small vesper mouse (*Calomys laucha*) in Argentina; Andes virus – long-tailed pygmy rice rat (*Oligoryzomys longicaudatus*) in South America; Bayou virus – marsh rice rat (*Oryzomys palustris*) Louisiana; and Black Creek Canal virus – hispid cotton rat (*Sigmodon hispidus*) in Florida ¹.

VECTORS: None known.

SECTION IV – STABILITY AND VIABILITY

DRUG SUSCEPTIBILITY: Susceptible to latoferrin (in vitro) and ribavirin (in vitro and in vivo) in cases of HFRS; however, the efficacy of these drugs on cases of HPS have not been shown ¹ ³ ⁶ ⁸.

SUSCEPTIBILITY TO DISINFECTANTS: Susceptible to 1% solution of sodium hypochlorite, 1-5% Clidox® (chlorine dioxide), 1-5% Dettol® (parachlorometaxlenol), 1-5% Halamid-d® (sodium-p-toluene-sulfonchloramide), 1-5% peracetic acid, or Virkon® with a 10 minute contact time. Also susceptible to absolute methanol with a 10 minute contact time and 70% ethanol with a 30 minute contact time ⁹.

PHYSICAL INACTIVATION: Inactivated by heat (15 min at 56°C for viruses in cell culture medium, and 2 hours at 56°C for dried viruses) ¹⁰.

SURVIVAL OUTSIDE HOST: Can survive for long periods in the environment: 12-15 days in contaminated beddings, 5-11 days at room temperature in cell culture supernatants, and 18 – 96 days at 4°C in cell culture supernatants ¹⁰ ¹¹.

SECTION V – FIRST AID / MEDICAL

SURVEILLANCE: Monitor for symptoms. Diagnosis is based mainly on serological tests to detect Hantavirus specific IgM, IgG, and neutralizing antibodies against the N protein or glycoproteins. Many different serological methods can be used, including immunofluorescence assay, haemagglutination-inhibition assay, and complement fixation tests ¹ ³ ⁶. RT-PCR assays (for the S and M genomic regions of Hanta virus) can also be used to detect Hantaviral RNA in clinical samples such as blood, serum, or tissues from both HPS and HFRS patients ³.

FIRST AID/TREATMENT: Treatment with antiviral ribavirin improves the outcome of HFRS, but has not been investigated for HPS ¹ ³. Treatment is supportive. Furthermore, extracorporeal CO₂ elimination system should be considered for HPS patients to prevent life threatening pulmonary edema and cardiogenic shock ¹ ³.

IMMUNIZATION: None.

PROPHYLAXIS: None.

SECTION VI - LABORATORY HAZARDS

LABORATORY-ACQUIRED INFECTIONS: Yes, 226 cases (no deaths) have been reported for Hantaan virus ⁷.

SOURCES/SPECIMENS: Blood, urine, cerebrospinal fluid, and respiratory secretions, as well as rodent urine ^{3, 12}.

PRIMARY HAZARDS: Ingestion, contact of mucous membranes or broken skin with infectious materials, inhalation, animal bites, and accidental parenteral inoculation ^{1, 3, 13}.

SPECIAL HAZARDS: Working with laboratory animals (exposure to animal excreta, fresh necropsy material, and animal bedding) ^{1, 12}.

SECTION VII – EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION

RISK GROUP CLASSIFICATION: Risk Group 3 ¹⁴. The risk group associated with Hantavirus reflects the genus as a whole, but does not necessarily reflect the risk group classification of every species within the genus.

CONTAINMENT REQUIREMENTS: Containment level 3 facilities, equipment and operational practices for all work involving infectious or potentially infectious materials, animals, or cultures. These containment requirements apply to the genus as a whole, and may not apply to each species within the genus.

PROTECTIVE CLOTHING: Personnel entering the laboratory should remove street clothing and jewellery, and change into dedicated laboratory clothing and shoes, or don full coverage protective clothing (i.e., completely covering all street clothing). Additional protection may be worn over laboratory clothing when infectious materials are directly handled, such as solid-front gowns with tight fitting wrists, gloves, and respiratory protection. Eye protection must be used where there is a known or potential risk of exposure to splashes ¹⁵.

OTHER PRECAUTIONS: All activities with infectious material should be conducted in a biological safety cabinet (BSC (biological safety cabinet)) or other appropriate primary containment device in combination with personal protective equipment. Centrifugation of infected materials must be carried out in closed containers placed in sealed safety cups, or in rotors that are loaded or unloaded in a biological safety cabinet. The use of needles, syringes, and other sharp objects should be strictly limited. Open wounds, cuts, scratches, and grazes should be covered with waterproof dressings. Additional precautions should be considered with work involving animals or large scale activities ¹⁵.

SECTION VIII – HANDLING AND STORAGE

SPILLS: Allow aerosols to settle, and wearing protective clothing, gently cover the spill with absorbent paper towel and apply appropriate disinfectant starting at the perimeter and working towards the center. Allow sufficient contact time before starting the clean up ¹⁵.

DISPOSAL: All wastes should be decontaminated before disposal either by steam sterilization, incineration or chemical disinfection ¹⁵.

STORAGE: The infectious agent should be stored in leak-proof containers that are appropriately labelled ¹⁵.

SECTION IX – REGULATORY AND OTHER INFORMATION

REGULATORY INFORMATION: The import, transport, and use of pathogens in Canada is regulated under many regulatory bodies, including the Public Health Agency of Canada, Health Canada, Canadian Food Inspection Agency, Environment Canada, and Transport Canada. Users are responsible for ensuring they are compliant with all relevant acts, regulations, guidelines, and standards.

UPDATED: October 2010

PREPARED BY: Pathogen Regulation Directorate, Public Health Agency of Canada.

Although the information, opinions and recommendations contained in this Pathogen Safety Data Sheet are compiled from sources believed to be reliable, we accept no responsibility for the accuracy, sufficiency, or reliability or for any loss or injury resulting from the use of the information. Newly discovered hazards are frequent and this information may not be completely up to date.

Copyright ©

Public Health Agency of Canada, 2010
Canada

REFERENCES:

- 1 Krauss, H., Schiefer, H. G., Weber, A., Slenczka, W., Appel, M., von Graevenitz, A., Enders, B., Zahner, H., & Isenberg, H. D. (2003). Viral Zoonoses. *Zoonoses: Infectious Disease Transmissible from Animals to Humans* (3rd ed., pp. 77-81). Washington D.C.: ASM Press.
- 2 Simpson, S. Q., Spikes, L., Patel, S., & Faruqi, I. (2010). Hantavirus Pulmonary Syndrome. *Infectious Disease Clinics of North America*, 24(1), 159-173.
- 3 Fulhorst, C. F., & Bowen, M. D. (2007). Hantaviruses. In P. R. Murray (Ed.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 1501-1509). Washington D.C.: ASM Press.

- 4 Bi, Z., Formenty, P. B., & Roth, C. E. (2008). Hantavirus infection: a review and global update. *Journal of Infection in Developing Countries*, 2(1), 3-23.
- 5 Schmaljohn, C. S., & Nichol, S. T. (2007). Bunyaviridae. In D. M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin, M. A. Martin, R. A. Lamb, B. Roizman & S. E. Straus (Eds.), *Fields Virology* (5th ed., pp. 1739-1789). Philadelphia PA: Lippincott Williams & Wilkins.
- 6 Krüger, D. H., Ulrich, R., & Lundkvist, A. (2001). Hantavirus infections and their prevention. *Microbes and Infection*, 3(13), 1129-1144.
- 7 Paragas, J., & Endy, T. P. (2006). Viral Agents of Human Disease: Biosafety Concerns. In D. O. Fleming, & D. L. Hunt (Eds.), *Biological Safety: Principles and Practices* (pp. 179-207). Washington, D.C.: ASM Press.
- 8 Murphy, M. E., Kariwa, H., Mizutani, T., Yoshimatsu, K., Arikawa, J., & Takashima, I. (2000). In vitro antiviral activity of lactoferrin and ribavirin upon hantavirus. *Archives of Virology*, 145(8), 1571-1582.
- 9 Maes, P., Li, S., Verbeeck, J., Keyaerts, E., Clement, J., & Van Ranst, M. (2007). Evaluation of the efficacy of disinfectants against Puumala hantavirus by real-time RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 141(1), 111-115.
- 10 Kallio, E. R., Klingström, J., Gustafsson, E., Manni, T., Vaheri, A., Henttonen, H., Vapalahti, O., & Lundkvist, Å. (2006). Prolonged survival of Puumala hantavirus outside the host: Evidence for indirect transmission via the environment. *Journal of General Virology*, 87(8), 2127-2134.
- 11 Hardestam, J., Simon, M., Hedlund, K. O., Vaheri, A., Klingström, J., & Lundkvist, Å. (2007). Ex vivo stability of the rodent-borne Hantaan virus in comparison to that of arthropod-borne members of the Bunyaviridae family. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(8), 2547-2551.
- 12 Viral agents (other than arboviruses): Hantavirus. (1999). In J. Y. Richmond, & R. W. and McKinney (Eds.), *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories* (4th ed., pp. 153-154). Washington, D.C.: CDC & NIH.
- 13 Collins, C. H., & Kennedy, D. A. (1999). Laboratory acquired infections. *Laboratory acquired infections: History, incidence, causes and prevention* (4th ed., pp. 1-37). Woburn, MA: BH.

- 14 Human pathogens and toxins act. S.C. 2009, c. 24, Second Session, Fortieth Parliament, 57-58 Elizabeth II, 2009. (2009).
 - 15 Public Health Agency of Canada. (2004). In Best M., Graham M. L., Leitner R., Ouellette M. and Ugwu K. (Eds.), *Laboratory Biosafety Guidelines* (3rd ed.). Canada: Public Health Agency of Canada.
-

Date modified:

2015-06-04

10.5. Anexo 5. Biotoxinas más comunes y sus LD₅₀

Toxina (Nombre en inglés)	LD ₅₀ (µg/Kg)*	Ruta de administración	Especie
Abrin	7 0,7	Oral IP**	Humano Ratón
Abrin reconstituted (mix A+B)	6	IP	Ratón
Abrin A	10	IP	Ratón
Abrin B	25	IP	Ratón
Abrin C	16	IP	Ratón
Abrin D	31	IP	Ratón
Aerolysin	7	IV	Ratón
Aflatoxin	1.750 2.020	Oral IM	Mono
Aflatoxin B/Aflatoxin B1	9.500	IP	Ratón
Aflatoxin B1 mixed with G1	680	IP	Ratón
Aflatoxin B2/dihydro B1	1.700	Oral	Pato
Aflatoxin G1	14.900 785	IP Oral	Rata Pato
Aflatoxin G2/dihydro G1	2450	Oral	Pato
Aflatoxin M1/4-hydroxy B1	320	NR	Pato
Aflatoxin M2/4-hydroxy B2	281	NR	Pato
Aflatoxin P1	150.000	IP	Ratón
Amanitin (alfa, beta and gamma)	<5	Oral	Humano
Anatoxin A	200	IP	Ratón
Beta-bungarotoxin	14 40	IP SC	Ratón Ratón
<i>Bacillus</i> sp hemolysins	40-80		Ratón
<i>Bordetella pertussis</i> toxin	21	IP	Ratón
<i>C. botulinum</i> ("natural product")	0,00003	IP	Ratón
<i>C. botulinum</i> toxin A	0,0012	IP	Ratón
<i>C. botulinum</i> toxin B	0,0012 0,0006	IP IP	Ratón Cobayo
<i>C. botulinum</i> toxin C1	0,0011	IV	Ratón
<i>C. botulinum</i> toxin C2	0,0012	IP	Ratón
<i>C. botulinum</i> toxin D	0,0004	IP	Ratón
<i>C. botulinum</i> toxin E	0,0011 0,0011	NR NR	Ratón Conejo
<i>C. botulinum</i> toxin F	0,0025	IV	Ratón
Caeruleotoxin	53	NR	Ratón
Cereolysin	40-80	NR	Ratón
Cholera toxin	250	NR	Ratón
Ciguatoxin	0,25	IP	Ratón

<i>Clostridium difficile</i> enterotoxin A	0,5	IP	Ratón
<i>Clostridium difficile</i> cytotoxin B	220	IP	Ratón
<i>Clostridium perfringens</i> lecithinase	3	IV	Ratón
<i>Clostridium perfringens</i> kappa toxin	1500	IV	Ratón
<i>Clostridium perfringens</i> perfringolysin O	13-16	IV	Ratón
<i>Clostridium perfringens</i> enterotoxin	81	IV	Ratón
<i>Clostridium perfringens</i> beta toxin	400	NR	Ratón
<i>Clostridium perfringens</i> delta toxin	5	IV	Ratón
<i>Clostridium perfringens</i> epsilon toxin	0.1	NR	Ratón
Conotoxins – GI, GIIIA, GIIIB, GIVA, MI, MVILA, SIA, SVIB	12-30	IP	Ratón
Crotoxin	82	IV	Ratón
Diacetoxyscirpenol	1.000-10.000	IP	Ratón
Diphtheria toxin	1.600 0,1	SC IM	Ratón Humano
Domoic acid	3.600	IP	Ratón
<i>Escherichia coli</i> enterotoxin	250	IV	Ratón
Gymnodimine	100	IP	Ratón
Leucocidin	50	IV	Mono
Listeriolysin	3-12	NR	Ratón
Lipopolysaccharide from <i>E. coli</i>	4.550	IV	Ratón
Maitotoxin	0,05	IP	Ratón
Microcystin-LR	45-1.000	IP	Ratón
Modeccin	1-10 2,4	IP IP	Rata Ratón
Neurotoxin from <i>Dendroaspis viridis</i>	45-80	IP	Ratón
Neurotoxin from <i>Naja haje</i>	50	SC	Ratón
Neurotoxins from scorpion	9-144	SC	Ratón
Nodularin	30-50	IP	Ratón
Nematocyst toxins from <i>Cnidaria</i>	33-70	IV	Ratón
Notexin	25	IV	Ratón
Ochratoxin A	40	IP	Ratón
Okadaic acid	192	IP	Ratón
Palytoxin	0,05 0,078	IP IV	Ratón Mono
Psilocybine	285	IV	Ratón
Pneumolysin	1,5	IV	Ratón
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> toxin A	3	IV	Ratón
Ricin toxin	2,7 >0,5	IV NR	Ratón Humano
Ricin/Ricine	2	IV	Ratón
Ricin A	5	IV	Ratón

Ricin B	35	IV	Ratón
Ricin C	17,5	IV	Ratón
Ricin D	0,000248	IV	Ratón
Saxitoxin	8	IP	Ratón
Shiga toxin	0,25	IP	Ratón
<i>Shigella dysenteriae</i> neurotoxin	1,3	IP	Ratón
	0,45	IV	Ratón
<i>Staphylococcus enterotoxin B</i>	20	IV	Mono
<i>Staphylococcus enterotoxin F</i>	2-10	IV	Mono
<i>Staphylococcus enterotoxin A, C, D and E</i>	20(A); <50(C)	IV	Mono
Streptolysin O	8	IV	Ratón
Streptolysin S	25	IV	Ratón
T-2 toxin	5.000- 10.000	IP	Ratón
Taipoxin	2	IV	Ratón
Tetanus toxin	0,001	NR	Ratón
Tetrodotoxin	8	IP	Ratón
Viscumin	2,4-80	IP	Ratón
Volkensin	1,4	IP	Ratón
<i>Yersinia pestis</i> murine toxin	10	IV	Ratón

*Información obtenida de <https://toxnet.nlm.nih.gov/newtoxnet/hsdb.htm>; Gill DM. Bacterial toxins: a table of lethal amounts. Microbiol Rev. 1982; 46:86-94; Stirpe F, Barbieri L, Battelli MG, Soria M, Lappi DA. Ribosome-inactivating proteins from plants: present status and future prospects. Biotechnology (N Y). 1992; 10:405-12; Registry of toxic effects of chemical substances (RTECS): comprehensive guide to the RTECS. 1997. Doris V. Sweet, ed., U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH.

** IP=intraperitoneal; IV=intravenoso; IM=intramuscular; SC=subcutánea; NR=no reportado

10.6. Anexo 6. Ejemplo de Ficha de Dato de Seguridad (FDS). Solución de acrilamida-bisacrilamida. Merck

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006 y la NCh2245



Fecha de revisión 04.11.2016

Versión 7.3

SECCIÓN 1. Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificador del producto

Artículo número	100641
Denominación	Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis.
Número de registro REACH	Este producto es una mezcla. Número de registro REACH véase sección 3.

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados	Análisis químico. Para informaciones adicionales a usos refiérase al portal Merck Chemicals (www.merckgroup.com ; for USA/Canada www.emdgroup.com).
--------------------	--

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía	Merck S.A. * Francisco de Paula Taforó 1981 * Casilla 48D * 7780349 Santiago de Chile * Chile * Tel.: +5623400000 * Fax: +5623400199 * e-mail: prodsafe@merckgroup.com
----------	---

1.4. Teléfono de emergencia

Centro Toxicológico CITUC: En caso de intoxicación: 56-2-6353800 *
En caso de emergencia química: 56-2-22473600 * Casilla 114-D, Santiago * Chile * Calle: Marcoleta 367, Santiago * Chile * e-mail: cituc@med.puc.cl

SECCIÓN 2. Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Clasificación (REGLAMENTO (CE) No 1272/2008)

Toxicidad aguda, Categoría 4, Oral, H302
Toxicidad aguda, Categoría 4, Inhalación, H332
Irritación cutánea, Categoría 2, H315
Irritación ocular, Categoría 2, H319
Sensibilización cutánea, Categoría 1, H317
Mutagenicidad en células germinales, Categoría 1B, H340
Carcinogenicidad, Categoría 1B, H350
Toxicidad para la reproducción, Categoría 2, H361f

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número

100641

Denominación

Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas, Categoría 1, Sistema nervioso periférico, H372

Para el texto íntegro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

2.2 Elementos de la etiqueta**Etiquetado (REGLAMENTO (CE) No 1272/2008)***Pictogramas de peligro**Palabra de advertencia*

Peligro

Indicaciones de peligro

H340 Puede provocar defectos genéticos.

H350 Puede provocar cáncer.

H302 + H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación

H315 Provoca irritación cutánea.

H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H361f Se sospecha que perjudica a la fertilidad.

H372 Perjudica a determinados órganos (Sistema nervioso periférico) por exposición prolongada o repetida.

Consejos de prudencia

Prevención

P201 Pedir instrucciones especiales antes del uso.

P280 Llevar guantes de protección.

Intervención

P302 + P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar abundante con agua y jabón.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P314 Consultar a un médico en caso de malestar.

Reservado exclusivamente a usuarios profesionales.

Etiquetado reducido (≤125 ml)*Pictogramas de peligro*

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número 100641
Denominación Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

Palabra de advertencia

Peligro

Indicaciones de peligro

H340 Puede provocar defectos genéticos.

H350 Puede provocar cáncer.

H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H361f Se sospecha que perjudica a la fertilidad.

H372 Perjudica a determinados órganos (Sistema nervioso periférico) por exposición prolongada o repetida.

Consejos de prudencia

P201 Pedir instrucciones especiales antes del uso.

P280 Usar guantes de protección.

P302 + P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua y jabón.

2.3. Otros peligros

Ninguno conocido.

SECCIÓN 3. Composición/información sobre los componentes

Naturaleza química

Solución acuosa con componentes orgánicos.

3.1 Sustancia

No aplicable

3.2 Mezcla**Componentes peligrosos (REGLAMENTO (CE) No 1272/2008)***Nombre químico (Concentración)*

No. CAS	Número de registro	Clasificación
---------	--------------------	---------------

Acrilamida (>= 25 % - < 50 %)

La sustancia no cumple los criterios de PBT o mPmB según el Reglamento (CE) núm. 1907/2006, anexo XIII.

79-06-1

*)

Toxicidad aguda, Categoría 3, H301

Toxicidad aguda, Categoría 4, H332

Toxicidad aguda, Categoría 4, H312

Irritación cutánea, Categoría 2, H315

Irritación ocular, Categoría 2, H319

Sensibilización cutánea, Categoría 1, H317

Mutagenicidad en células germinales, Categoría 1B, H340

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	100641
Denominación	Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

Carcinogenicidad, Categoría 1B, H350
Toxicidad para la reproducción, Categoría 2, H361f
Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas, Categoría 1, H372

N,N'-Metilendiácridamida ($\geq 1\%$ - $< 10\%$)

110-26-9 *)

Toxicidad aguda, Categoría 4, H302

*) No hay disponible un número de registro para esta sustancia, ya que su uso está exenta del registro; según el artículo 2 del Reglamento REACH (CE) núm. 1097/2006, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior.

Para el texto íntegro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

SECCIÓN 4. Primeros auxilios**4.1. Descripción de los primeros auxilios**

Tras inhalación: aire fresco. Tras parada respiratoria: inmediatamente proceder a respiración instrumental. En su caso, aplicar oxígeno. Llamar inmediatamente al médico.

En caso de contacto con la piel: quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua/ ducharse. Consultar a un médico.

Tras contacto con los ojos: aclarar con abundante agua. Consultar al oftalmólogo.

Tras ingestión: hacer beber agua inmediatamente (máximo 2 vasos). Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Efectos irritantes; reacciones alérgicas; ataxia (alteraciones de la coordinación motriz); efectos sobre el sistema nervioso central; debilidad muscular; temblores; provoca espasmos epilépticos.

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

No hay información disponible.

SECCIÓN 5. Medidas de lucha contra incendios**5.1 Medios de extinción**

Medios de extinción apropiados

Agua, dióxido de carbono (CO₂), espuma, polvo seco.

Medios de extinción no apropiados

No existen limitaciones de agentes extinguidores para esta sustancia/mezcla.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número 100641

Denominación Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Mezcla con componentes combustibles.

En caso de incendio, posible formación de gases de combustión o vapores peligrosos. El fuego puede provocar emanaciones de óxidos de nitrógeno, ácido cianhídrico (cianuro de hidrógeno).

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios*Equipo de protección especial para el personal de lucha contra incendios.*

Permanencia en el área de riesgo sólo con sistemas de respiración artificiales e independientes del ambiente. Protección de la piel mediante observación de una distancia de seguridad y uso de ropa protectora adecuada.

5.4 Otros datos

Reprimir los gases/vapores/neblinas con agua pulverizada. Impedir la contaminación de las aguas superficiales o subterráneas por el agua que ha servido a la extinción de incendios.

SECCIÓN 6. Medidas en caso de vertido accidental**6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia**

Indicaciones para el personal que no forma parte de los servicios de emergencia: no respirar los vapores, aerosoles: evitar el contacto con la sustancia; asegúrese una ventilación apropiada; evacúe el área de peligro; respete los procedimientos de emergencia; consulte con expertos.

Consejos para el personal de emergencia: equipo protector véase sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No tirar los residuos por el desagüe.

6.3 Métodos y material de contención y limpieza

Cubra las alcantarillas. Recoja una y aspire los derrames.

Observe posibles restricciones de materiales (véanse indicaciones en las secciones 7 o 10).

Recoger con materiales absorbentes, p. ej. con Chemizorb®. Proceder a la eliminación de los residuos. Aclarar.

6.4 Referencia a otras secciones

Para indicaciones sobre el tratamiento de residuos, véase sección 13.

SECCIÓN 7. Manipulación y almacenamiento**7.1 Precauciones para una manipulación segura***Consejos para una manipulación segura*

Trabajar bajo campana extractora. No inhalar la sustancia/mezcla. Evítese la generación de vapores/aerosoles.

Observar las indicaciones de la etiqueta.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	100641
Denominación	Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

Medidas de higiene

Sustituir inmediatamente la ropa contaminada. Protección preventiva de la piel. Lavar cara y manos al término del trabajo.

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades*Condiciones de almacenamiento*

Bien cerrado. Manténgase el recipiente en un lugar bien ventilado. Mantenerlo encerrado en una zona únicamente accesible por las personas autorizadas o calificadas. Protegido de la luz.

Temperatura de almacenaje recomendada indicada en la etiqueta del producto.

7.3 Usos específicos finales

Fuera de los usos indicados en la sección 1.2, no se previenen aplicaciones finales adicionales.

SECCIÓN 8. Controles de exposición/protección individual**8.1 Parámetros de control**

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición**Disposiciones de ingeniería**

Medidas técnicas y observación de métodos adecuados de trabajo tienen prioridad ante el uso de equipos de protección personal.

Véase sección 7.1.

Medidas de protección individual

Los tipos de auxiliares para protección del cuerpo deben elegirse específicamente según el puesto de trabajo en función de la concentración y cantidad de la sustancia peligrosa.

Debería aclararse con el suministrador la estabilidad de los medios protectores frente a los productos químicos.

Protección de los ojos / la cara

Gafas de seguridad

Protección de las manos

Salpicaduras:

Material del guante:	Vitón (R)
Espesor del guante:	0,70 mm
Tiempo de penetración:	> 120 min

Los guantes de protección indicados deben cumplir con las especificaciones de la Directiva 89/686/EEC y con su norma resultante EN374, por ejemplo, KCL 890 Vitoject® (salpicaduras). Los tiempos de ruptura mencionados anteriormente han sido determinados con

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número 100641
Denominación Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

muestras de material de los tipos de guantes recomendados en mediciones de laboratorio de KCL según EN374.

Esta recomendación solo es válida para el producto mencionado en la ficha de datos de seguridad, suministrado por nosotros y para el fin indicado. Al disolver o mezclar en otras sustancias y cuando las condiciones difieran de las indicadas en EN374, debe dirigirse al suministrador de guantes con distintivo CE (por ejemplo: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Internet: www.kcl.de)

Otras medidas de protección

Prendas de protección

Protección respiratoria

Necesaria en presencia de vapores/aerosoles. Tipo de Filtro recomendado: Filtro A-(P3). El empresario debe garantizar que el mantenimiento, la limpieza y la prueba técnica de los protectores respiratorios sigan las instrucciones del productor de las mismas. Estas medidas deben ser documentadas debidamente.

Controles de exposición medioambiental

No tirar los residuos por el desagüe.

SECCIÓN 9. Propiedades físicas y químicas**9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas**

Forma	Líquido
Color	Incoloro
Olor	Inodoro
Umbral olfativo	No aplicable
pH	No hay información disponible.
Punto de fusión	No hay información disponible.
Punto de ebullición	No hay información disponible.
Punto de inflamación	No hay información disponible.
Tasa de evaporación	No hay información disponible.
Inflamabilidad (sólido, gas)	No hay información disponible.
Límite de explosión, inferior	No hay información disponible.
Límite de explosión, superior	No hay información disponible.
Presión de vapor	No hay información disponible.
Densidad relativa del vapor	No hay información disponible.
Densidad	1,03 g/cm ³ a 20 °C
Densidad relativa	No hay información disponible.
Solubilidad en agua	No hay información disponible.
Coeficiente de reparto n-octanol/agua	No hay información disponible.
Temperatura de auto-inflamación	No hay información disponible.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número 100641
Denominación Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

Temperatura de descomposición	No hay información disponible.
Viscosidad, dinámica	No hay información disponible.
Propiedades explosivas	No clasificado/a como explosivo/a.
Propiedades comburentes	Ninguna.

9.2 Otros datos

Ninguno.

SECCIÓN 10. Estabilidad y reactividad**10.1 Reactividad**

Para la sustancia disuelta:
reacciona con facilidad tiende a polimerizar

10.2 Estabilidad química

Sensibilidad a la luz

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Puede producirse una polimerización violenta por:
Peróxidos, metales, ácidos, bases, oxidantes fuertes.
Reacción exotérmica con:
Álcalis, ácido sulfúrico.

10.4 Condiciones que deben evitarse

Calefacción (descomposición).

10.5 Materiales incompatibles

Información no disponible

10.6 Productos de descomposición peligrosos

En caso de incendio: véase sección 5.

SECCIÓN 11. Información toxicológica**11.1 Información sobre los efectos toxicológicos****Mezcla***Toxicidad oral aguda*

Estimación de la toxicidad aguda: 464,85 mg/kg

Método de cálculo

Síntomas: Irritaciones de las mucosas en la boca, garganta, esófago y tracto estómago-intestinal.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número 100641

Denominación Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

Absorción

Estimación de la toxicidad aguda: 464,85 mg/kg

Método de cálculo

Toxicidad aguda por inhalación

Estimación de la toxicidad aguda: 4,26 mg/l; 4 h; polvo/niebla

Método de cálculo

Síntomas: Consecuencias posibles: irritación de las mucosas

Absorción

Estimación de la toxicidad aguda: 4,26 mg/l; 4 h; polvo/niebla

Método de cálculo

Toxicidad cutánea aguda

Estimación de la toxicidad aguda: > 2.000 mg/kg

Método de cálculo

Absorción

Estimación de la toxicidad aguda: > 2.000 mg/kg

Método de cálculo

Irritación de la piel

Mezcla provoca irritación cutánea.

Irritación ocular

Mezcla provoca irritación ocular grave.

Sensibilización

Mezcla puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Mutagenicidad en células germinales

Esta información no está disponible.

Carcinogenicidad

Esta información no está disponible.

Toxicidad para la reproducción

Esta información no está disponible.

Teratogenicidad

Esta información no está disponible.

Efectos CMR

Carcinogenicidad:

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número 100641

Denominación Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

Carcinógeno posible.

Mutagenicidad:

Mutágeno posible

Toxicidad para la reproducción:

Evidencia de daños a la fertilidad.

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Esta información no está disponible.

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Mezcla provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas. Vía de exposición: ingestión.

Órganos diana: sistema nervioso periférico.

Peligro de aspiración

Esta información no está disponible.

11.2 Otros datos

Tras absorción:

Efectos sobre el sistema nervioso central, ataxia (alteraciones de la coordinación motriz), debilidad muscular, temblores

Perjudicial para: hígado.

Las otras propiedades peligrosas no pueden ser excluidas.

El producto debe manejarse con especial cuidado.

Componentes

Acrilamida

Toxicidad oral aguda

DL50 Rata: 177 mg/kg

Directrices de ensayo 401 de la OECD

Toxicidad aguda por inhalación

Estimación de la toxicidad aguda: 1,6 mg/l; polvo/niebla

Juicio de expertos

Toxicidad cutánea aguda

DL50 Conejo: 1.141 mg/kg

Directrices de ensayo 402 de la OECD

Irritación ocular

Conejo

Resultado: irritación ocular directrices de ensayo 405 de la OECD

Sensibilización

Prueba de Maximización (GPMT) Conejillo de indias Resultado: positivo

Método: directrices de ensayo 406 de la OECD

Mutagenicidad en células germinales

Genotoxicidad in vivo

Rata

macho

Resultado: positivo

Método: directrices de ensayo 478 de la OECD

Genotoxicidad in vitro

Prueba de Ames

Salmonella typhimurium

Resultado: negativo

Método: OECD TG 471

Mutagenicidad (ensayo de células de mamífero): ensayo de aberración cromosómica.

Resultado: positivo

Método: OECD TG 473

Mutagenicidad (ensayo de células de mamífero):

Resultado: negativo

Método: OECD TG 476

Teratogenicidad

No mostró efectos teratógenos en experimentos con animales.

N, N'-Metilendiacrilamida

Toxicidad oral aguda

DL50 Rata: 390 mg/kg

(RTECS)

SECCIÓN 12. Información ecológica

Mezcla

12.1 Toxicidad

No hay información disponible.

12.2 Persistencia y degradabilidad

No hay información disponible.

12.3 Potencial de bioacumulación

No hay información disponible.

12.4 Movilidad en el suelo

No hay información disponible.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número 100641

Denominación Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

La(s) sustancia(s) en la mezcla no cumplen los criterios de PBT o mPmB según el Reglamento (CE) núm. 1907/2006, anexo XIII.

12.6 Otros efectos adversos

La descarga en el ambiente debe ser evitada.

Componentes*Acrilamida*

Toxicidad para las dafnias y otros invertebrados acuáticos

Ensayo dinámico CE50 *Daphnia magna* (pulga de mar grande): 98 mg/l; 48 h
US-EPA

Toxicidad para las algas

Ensayo estático IC50 *Pseudokirchneriella subcapitata* (alga verde): 67,7 mg/l; 72 h
OECD TG 201
(solución al 50%)

Inhibición del crecimiento NOEC *Selenastrum capricornutum* (algas verdes): 16 mg/l
(ficha de datos de Seguridad externa)

Toxicidad para las bacterias

CE50 *Photobacterium phosphoreum*: 13.500 mg/l
(IUCLID)

Toxicidad para los peces (Toxicidad crónica)

NOEC *Cyprinus carpio* (Carpa): 5 mg/l; 28 d
(ECHA)

Biodegradabilidad

100 %; 28 d; aeróbico
OECD TG 301D
Fácilmente biodegradable.

Coeficiente de reparto n-octanol/agua

log Pow: -0,78

La sustancia no cumple los criterios de PBT o mPmB según el Reglamento (CE) núm. 1907/2006, anexo XIII.

N, N'-Metilendiacrilamida

Toxicidad para los peces

CL50 *Oncorhynchus mykiss* (Trucha irisada): 100 mg/l; 96 h

Coeficiente de reparto n-octanol/agua

log Pow: -0,069

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número

100641

Denominación

Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

SECCIÓN 13. Consideraciones relativas a la eliminación*Métodos para el tratamiento de residuos*

Los residuos deben eliminarse de acuerdo con normativas locales y nacionales. Deje los productos químicos en sus recipientes originales. No los mezcle con otros residuos. Maneje los recipientes sucios como el propio producto.

Consulte en www.retrologistik.com sobre procesos relativos a la devolución de productos químicos o recipientes, o contáctenos si tiene más preguntas.

SECCIÓN 14. Información relativa al transporte**Transporte por carretera (ADR/RID)****14.1 - 14.6**

Producto no peligroso según los criterios de reglamentación del transporte.

Transporte fluvial (ADN)

No relevante

Transporte aéreo (IATA)**14.1 - 14.6**

Producto no peligroso según los criterios de reglamentación del transporte.

Transporte marítimo (IMDG)**14.1 - 14.6**

Producto no peligroso según los criterios de reglamentación del transporte.

14.7 Transporte a granel con arreglo al anexo II del Convenio Marpol 73/78 y del Código IBC

No relevante

SECCIÓN 15. Información reglamentaria**15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla***Legislación nacional*

Clase de almacenamiento 6.1C

Legislación en Chile:

Decreto Supremo N° 298 y sus modificaciones
Ministerio de Transporte y Telecomunicaciones

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número 100641
Denominación Acrilamida-bis solución lista para usar 30% (29,1:0,9) para electroforesis

Decreto Supremo N°40

Ministerio del Trabajo y Previsión Social

Decreto Supremo N° 594 y sus modificaciones
Ministerio de Salud

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para este producto no se realizó una valoración de la seguridad química.

SECCIÓN 16. Otra información**Texto íntegro de las Declaraciones-H referidas en las secciones 2 y 3.**

H301	Tóxico en caso de ingestión.
H302	Nocivo en caso de ingestión.
H312	Nocivo en contacto con la piel.
H315	Provoca irritación cutánea.
H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
H319	Provoca irritación ocular grave.
H332	Nocivo en caso de inhalación.
H340	Puede provocar defectos genéticos.
H350	Puede provocar cáncer.
H361f	Se sospecha que perjudica la fertilidad.
H372	Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

Consejos relativos a la formación

Debe disponer a los trabajadores la información y la formación práctica suficientes.

Etiquetado*Pictogramas de peligro*

Palabra de advertencia
Peligro

Indicaciones de peligro

H302 + H332	Nocivo en caso de ingestión o inhalación.
H315	Provoca irritación cutánea.
H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
H319	Provoca irritación ocular grave.
H340	Puede provocar defectos genéticos.
H350	Puede provocar cáncer.
H361	Se sospecha que perjudica la fertilidad o daña al feto.
H372	Perjudica a determinados órganos (sistema nervioso periférico) por exposición prolongada o repetida.

Consejos de prudencia

Prevención

P201 Pedir instrucciones especiales antes del uso.

P280 Llevar guantes de protección.

Intervención

P302 + P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua y jabón.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P314 Consultar a un médico en caso de malestar.

Otros datos

Reservado exclusivamente a usuarios profesionales.

Una explicación de las abreviaturas y los acrónimos utilizados en la ficha de datos de seguridad

Puede consultar las abreviaturas y acrónimos utilizados en www.wikipedia.org

Los datos suministrados en esta ficha de seguridad se basan en nuestro actual conocimiento. Describen tan sólo las medidas de seguridad en el manejo de este producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo.

10.7. Anexo 7. Tabla de Incompatibilidades Químicas

Esta tabla de incompatibilidades químicas se utiliza como guía para el almacenamiento de sustancias peligrosas en bodegas y laboratorios. Extraído de la Universidad de Concepción (<http://www2.udec.cl/matpel/wmat/wp-content/uploads/Tabla-de-Incompatibilidad-Química.pdf>).

Clase	1	2.1	2.2	2.3	3	4.1	4.2	4.3	5.1	5.2	6.1	7	8	9
1														
2.1														
2.2														
2.3														
3														
4.1														
4.2														
4.3														
5.1														
5.2														
6.1														
7														
8														
9														

	PELIGRO Son incompatibles. Almacenar separados a lo menos a 2,4 m.	PRECAUCIÓN. Posibles restricciones. Revisar las incompatibilidades individuales utilizando las HDS. Almacenar al menos en compartimientos diferentes.	No existe incompatibilidad. Pueden almacenarse juntos. Verificar la reactividad en las HDS.
--	--	---	--

Pasos para almacenar sustancias peligrosas

1. Complete registro SUSPEL "Almacenamiento de Sustancias Peligrosas", ingresando a lo menos: nombre de la sustancia, clase de peligrosidad, cantidad almacenada y fabricante o marca.
2. Recopile todas las Hojas de Seguridad (HDS), y mantenga en un lugar de fácil acceso y conocido por todo el personal.
3. Separe por clase de peligrosidad todas las sustancias peligrosas, si tiene dudas de la clase, verifique la peligrosidad en la HDS correspondiente a las sustancias.
4. Agrupe las sustancias que tengan la misma clase riesgo identificadas.

5. Aplique la TABLA DE INCOMPATIBILIDADES cruzando las diferentes clases de riesgo identificadas.
6. Separe las clases incompatibles, por ejemplo:
 - Clase 3, 4.1, 4.2 y 4.3, 6.1, 8 y 9 incompatible con Clase 5.1. SE DEBEN ALMACENAR SEPARADAS.
 - Clase 4.1, 4.3, 5.1 y 5.2 incompatible con Clase 8. SE DEBEN ALMACENAR SEPARADAS.
7. Haga un plano de su laboratorio y/o bodega en el cual ubique de forma aproximada las sustancias peligrosas, considerando la separación entre ellas por compatibilidad, cantidad y espacio disponible.
8. Coloque las sustancias dentro de bandejas de contención, considerando las incompatibilidades químicas. NUNCA almacenar en una misma bandeja sustancias que sean incompatibles.
9. Almacene las sustancias y señalice el lugar o estante utilizado con la señalética entregada por SUSPEL “Almacenamiento de Sustancias Peligrosas”.

Notas

- En todos los casos, deben seguirse las normas nacionales vigentes para el rotulado, etiquetado y segregación (Norma Chilena N°2190 [8], Norma Chilena N°382 [59] y Decreto Supremo N°43 [61]).
- Los gases (clases 2.1; 2.2; 2.3) deben almacenarse fuera de los laboratorios, en bodegas exclusivas para ellos, considerando incompatibilidades químicas y condiciones especiales, las cuales deben ser autorizadas por MATPEL.
- El almacenamiento de las sustancias de la clase 8 “Corrosivos” debe considerar si son corrosivos básicos ($\text{pH} > 8$) o ácidos ($\text{pH} < 6$), y estos deben separarse para el almacenamiento por lo menos en bandejas de contención distintas.
- La clase 5.1 debe almacenarse SEPARADA de todas las otras clases de peligrosidad, considerar un mueble o estante aparte.
- Quedan excluidas de esta guía las siguientes sustancias por estar regidas por condiciones y normas especiales para su almacenamiento y manipulación:
 - Explosivos, clase 1, Ley N°17.798 [76].
 - Combustibles líquidos y gaseosos, Decreto Supremo N°160/08 [92] y Decreto Supremo N°29/86 [93].
 - Sustancias infecciosas Clase 6.2.
 - Radiactivos clase 7, CCHEN.

10.8. Anexo 8. Tabla de Radionúclidos mayormente usados en centros de investigación y sus posibles residuos generados.

Radionúclido	Período de semidesintegración	Tipo de emisión y energía máxima	Principal residuo
Tritio (H^3)	12 años	Beta, 0,018 MeV	Líquido centelleo
Carbono14 (C^{14})	5730 años	Beta, 0,156 MeV	Líquido centelleo
Azufre35 (S^{35})	87,9 días	Beta, 0,167 MeV	Líquido centelleo
Fósforo32 (P^{32})	14,0 días	Beta, 0,710 MeV	Solución, sólidos
Iodo125 (I^{125})	60,2 días	Gamma, 0,035 MeV	Solución, sólidos
Iodo131 (I^{131})	8,04 días	Beta, Gamma 0,364MeV	Solución
Tecnecio99m (Tc^{99m})	6,0 horas	Gamma, 0,140 MeV	Solución

Para aquellos radionúclidos de período de semidesintegración corto, es posible almacenarlos adecuadamente por un período equivalente a 10 períodos hasta alcanzar niveles donde la fuente o desechos, pueden ser liberados bajo los requerimientos regulatorios (ejemplo el caso del P^{32} y del I^{131}).

En las demás situaciones se requiere realizar una gestión de los desechos por organismos especializados, donde el laboratorio o instalación se debe preocupar por el adecuado almacenamiento en cuanto a contenedores y el lugar físico de estos, de acuerdo a las recomendaciones y requerimientos de la autoridad reguladora.

Otros radionúclidos utilizados en investigación se indican en la siguiente tabla:

Radionúclido	Principal uso
Na^{22}	Investigación, diagnóstico clínico
Cl^{36}	Investigación
K^{42}	Investigación biomédica
Ca^{45}	Investigación
Cr^{51}	Supervivencia de las células sanguíneas
Fe^{59}	Mediciones clínicas e investigación
Co^{57}	Investigación y diagnosis de anemia perniciosa
Se^{75}	Estudio de proteínas y mediciones clínicas
Sr^{85}	Estudio de formación de huesos
Hg^{203}	Investigación biológica

10.9. Anexo 9. Primeros auxilios.

La siguiente información fue extraída del Manual de Bioseguridad de la Organización Mundial de la Salud [7].

Los primeros auxilios consisten en la aplicación experta de principios aceptados de tratamiento médico en el momento y lugar en que se produce un accidente. Es el método aprobado para tratar a la víctima de un accidente hasta que se la pueda poner en manos de un médico para el tratamiento definitivo de la lesión.

El equipo mínimo de primeros auxilios consta de un botiquín, ropa protectora y equipo de seguridad para la persona que presta los primeros auxilios, y equipo para la irrigación ocular.

Botiquín de primeros auxilios

El maletín propiamente dicho debe estar hecho de un material que mantenga el contenido sin polvo ni humedad. Debe guardarse en un lugar bien visible y ser fácilmente reconocible. Por convenio internacional, el botiquín de primeros auxilios se identifica mediante una cruz blanca sobre fondo verde.

El botiquín de primeros auxilios debe contener lo siguiente:

1. Hoja de instrucciones con orientaciones generales.
2. Apósitos estériles adhesivos, empaquetados individualmente y de distintos tamaños.
3. Parches oculares estériles con cintas.
4. Vendas triangulares.
5. Compresas estériles para heridas.
6. Imperdibles (alfileres de gancho).
7. Una selección de apósitos estériles no medicados.
8. Un manual de primeros auxilios, por ejemplo, publicado por la Cruz Roja Internacional.

El equipo de protección de la persona que presta los primeros auxilios incluye lo siguiente:

1. Una gasa para la boca para realizar la respiración boca a boca.
2. Guantes y otras protecciones de barrera contra la exposición a la sangre.
3. Un estuche de limpieza para los derrames de sangre (véase Tabla 6 del manual).

También debe disponerse de material para la irrigación ocular; el personal estará debidamente adiestrado en su utilización.

11. Referencias

1. Comité Européen de Normalisation (CEN). 2012. Laboratory biorisk management - Guidelines for the implementation of CWA 15793:2008. Disponible en: <http://www.cdc.gov.tw/professional/downloadfile.aspx?fid=49B44973866FEC44>
2. Ley 16.744. 2015. Establece normas sobre accidentes del trabajo y enfermedades profesionales. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=28650>
3. Instituto de Salud Pública (ISP). 2013. Guía de Bioseguridad para Laboratorios Clínicos (BLC). Disponible en: <http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2013/08/Manual%20Bio-30082013B.pdf>
4. National Institute of Health (NIH). 2016. NIH Guidelines. Disponible en: https://osp.od.nih.gov/wp-content/uploads/NIH_Guidelines.html#_Toc446948379.
5. Public Health Agency of Canada. 2017. Pathogen Safety Data Sheets and Risk Assessment (PSDSs). Disponible en: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment.html>
6. American Type Culture Collection (ATCC). 2017. American Type Culture Collection. Disponible en: <https://www.atcc.org/>
7. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2005. Manual de bioseguridad en el laboratorio. Disponible en: http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf
8. NCh2190:2003. 2003. Transporte de sustancias peligrosas - Distintivos para identificación de riesgos. Disponible en: http://ecommerce.inn.cl/Ficha_Producto/?p=NCh2190:2003
9. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2017-2018. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2017–2018. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254788/1/WHO-WHE-CPI-2017.8-eng.pdf?ua=1>

10. Resolución 2.229 Exenta. 2001. Establece normas de ingreso de material biológico y deroga resoluciones que indica. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=190087>
11. Decreto 400. 2015. Fija texto refundido, coordinado y sistematizado de la Ley N° 17.798, sobre control de armas. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=13031>
12. Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2002. Cabinas de seguridad biológica: uso, desinfección y mantenimiento. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s16575s/s16575s.pdf>
13. National Institute of Health (NIH). 2016. Design Requirements Manual, The formulae for building state of the art biomedical research facilities. Disponible en: https://www.orf.od.nih.gov/PoliciesAndGuidelines/BiomedicalandAnimalResearchFacilitiesDesignPoliciesandGuidelines/Documents/2016DesignRequirementsManual/NIH-DRM-Rev.%200.2%20-%20090517%20-%20Secured_508.pdf
14. Decreto 18. 1982. Certificación de calidad de elementos de protección personal contra riesgos ocupacionales. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=7603>
15. Decreto 6. 2009. Aprueba reglamento sobre manejo de residuos de establecimientos de atención de salud (REAS). Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1008725>
16. Decreto 148. 2004. Aprueba reglamento sanitario sobre manejo de residuos peligrosos. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=226458>
17. D. P. Dennett; T. J. Bagust; A. Jenkins. Use of a commercial *Bacillus subtilis* biological indicator for monitoring the effectiveness of formaldehyde fumigation. Avian Pathol. 1982;11:515-9. doi: 10.1080/03079458208436123.
18. D. Vesley; A. C. Langholz; S. R. Rohlfing; W. E. Foltz. Fluorimetric detection of a *Bacillus stearothermophilus* Spore-Bound Enzyme, alpha-d-Glucosidase, for Rapid Indication of Flash Sterilization Failure. Appl Environ Microbiol. 1992;58:717-9.
19. Decreto 10. 2013. Aprueba reglamento de calderas, autoclaves y equipos que utilizan vapor de agua. Disponible en:

<https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1055319>

20. K. Munro; J. Lanser; R. Flower. A comparative study of methods to validate formaldehyde decontamination of biological safety cabinets. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65:873-6.
21. N. Silman. 2013. Fumigation of Spaces. En: "Working in Biosafety Level 3 and 4 Laboratories" (eds Weidmann M, Silman N, Butaye P, Elschner M), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, p. 75-82. doi: 10.1002/9783527675357.ch8
22. C. H. Collins; D. A. Kennedy. Laboratory-acquired infections : history, incidence, causes and prevention. 4th ed. ed: Oxford : Butterworth-Heinemann; 1999.
23. M. Weidmann. 2013. Learning from a History of Laboratory Accidents. En: "Working in Biosafety Level 3 and 4 Laboratories" (eds Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, p. 83-94. doi: 10.1002/9783527675357.ch9)
24. Health Services Advisory Committee. Safe working and the prevention of infection in clinical laboratories. London: HSE Books; 1991.
25. Ley 20.380. 2009. Sobre protección de animales. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1006858>
26. K. Bayne; P.V. Turner. 2013. Laboratory Animal Welfare. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/book/9780123851031>
27. W. M. S. Russell; R. L. Burch. The principles of humane experimental technique. Wheathampstead (UK): Universities Federation for Animal Welfare; 1959.
28. B. Close; K. Banister; V. Baumans; E. M. Bernoth; N. Bromage; J. Bunyan, et al. 2014. Recomendaciones para la Eutanasia de los animales de experimentación. Parte 1. Disponible en: <https://secal.es/wp-content/uploads/2014/11/Eutanasia1.pdf>
29. B. Close; K. Banister; V. Baumans; E. M. Bernoth; N. Bromage; J. Bunyan, et al. 2014. Recomendaciones para la Eutanasia de los animales de experimentación. Parte 2. Disponible en: <https://secal.es/wp-content/uploads/2014/11/Eutanasia2.pdf.pdf>
30. R. M. Pike. Laboratory-associated infections: incidence, fatalities, causes, and prevention. *Annu Rev Microbiol.* 1979;33:41-66. doi: 10.1146/annurev.mi.33.100179.000353

31. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2017. Vigilancia de enfermedades. Disponible en:
<http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/vigilancia-de-enfermedades/1607/normativas>
32. Resolución 3.397 Exenta. 1998. Fija exigencias sanitarias para la internación de carnes de cerdo enfriadas o congeladas. Disponible en:
<https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=126543>
33. Resolución 7.561 Exenta. 2014. Establece pruebas diagnósticas oficiales para el control y erradicación de la tuberculosis bovina. Disponible en:
<https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1068635>
34. N. Borrell; X. Mesquida; P. Alomar. Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. 2007. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología. Disponible en:
<http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo17.pdf>
35. Fondecyt-CONICYT. 2008. Manual de Normas de Bioseguridad. Segunda Edición. Disponible en: http://www.conicyt.cl/Fondecyt/files/2012/09/articles-30555_recurso_1.pdf
36. National Institute of Health (NIH). 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Edition. Disponible en:
<https://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/bmbl.pdf>
37. Decreto 1201 Exento. 2014. Modifica Decreto N° 6, de 2010, que dispone vacunación obligatoria contra enfermedades inmunoprevenibles de la población del país. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1056598>
38. Sernapesca. 2003. Política nacional de Acuicultura. Disponible en:
http://www.subpesca.cl/portal/616/articles-60019_recurso_1.pdf
39. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2017. Plagas y enfermedades. Disponible en:
<http://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/plagas-y-enfermedades>
40. P. L. Traynor; D. Adair; R. Irwin. 2001. Practical Guide to Containment: Greenhouse Research With Transgenic Plants and Microbes. Disponible en:
<https://www.conacyt.gob.mx/cibiogem/images/cibiogem/comunicacion/Eventos/CI BIOGEM/Taller-Bioseguridad-Cofinamiento/Practical-guide-containment.pdf>

41. The SACGM Compendium of guidance: Guidance from the Scientific Advisory Committee on Genetic Modification. 2014. Part 4: Genetic modification work that involves plants (including plant-associated genetically modified microorganisms). Disponible en: <http://www.hse.gov.uk/biosafety/gmo/acgm/acgmcomp/part4.pdf>
42. Ministerio de Salud (MINSAL). 2014. Informe de Vigilancia de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud, 2014. Disponible en: <http://web.minsal.cl/wp-content/uploads/2016/10/informe-IAAS-2014.pdf>
43. Ministerio de Salud (MINSAL). 2017. Definiciones y criterios de notificación de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) para la vigilancia epidemiológica, 2017. Disponible en: <http://web.minsal.cl/wp-content/uploads/2017/01/Manual-Definiciones-para-Sistema-de-Vigilancia-Epidemiol%C3%B3gica-IAAS-2017-corregido-23-01-2017.pdf>
44. Convention on Biological Diversity. 2017. Cartagena Protocol on Biosafety. Disponible en: http://bch.cbd.int/protocol/cpb_mopmeetings.shtml
45. Naciones Unidas. 2017. Convenio sobre la Diversidad Biológica. Disponible en: <http://www.un.org/es/events/biodiversityday/convention.shtml>
46. Food and Agricultural Organization (FAO). 2012. Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. Disponible en: <https://www.ippc.int/static/media/files/mediakit/IPPCGenericFlyer-es.pdf>
47. Food and Agricultural Organization (FAO). 2017. Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. Disponible en: <https://www.ippc.int/es/>
48. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2017. Organismos genéticamente modificados (OGM). Disponible en: <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/organismos-geneticamente-modificados-ogm>
49. Ministerio del Medio Ambiente. 2017. Portal del Ministerio del Medio Ambiente. Disponible en: <http://portal.mma.gob.cl/>
50. S. Kumar. Biosafety Issues of Genetically Modified Organisms. 2014;3:e150. doi: 10.4172/2167-0331.1000e150.
51. National Institute of Health (NIH). 2016. NIH Guidelines for research involving recombinant or synthetic nucleic acid molecules. Disponible en:

https://osp.od.nih.gov/wp-content/uploads/2013/06/NIH_Guidelines.pdf

52. A. Leunda, B. Van Vaerenbergh, A. Baldo, S. Roels, P. Herman. Laboratory activities involving transmissible spongiform encephalopathy causing agents: risk assessment and biosafety recommendations in Belgium. *Prion*. 2013;7:420-33. doi: 10.4161/pri.26533.

53. Decreto 385. 1980. Promulga convención sobre la prohibición del desarrollo, la producción y el almacenamiento de armas bacteriológicas (biológicas) y tóxicas y sobre su destrucción. Disponible en:

<https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=400702>

54. National Institute of Health (NIH). 2017. TOXNET. Toxicology Data Network. Disponible en: <https://toxnet.nlm.nih.gov/newtoxnet/hsdb.htm>

55. B Johnson, R Mastnjak, I. G. Resnick. Safety and health considerations for conducting work with biological toxins. *Applied Biosafety*. 2001;6:117-35.

56. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2017. Federal select agent program. Selected agents and toxins. Disponible en: <https://www.selectagents.gov/SelectAgentsandToxins.html>

57. Office of Environmental Health & Safety. University of Virginia. 2007. Biosafety. Disponible en: <http://ehs.virginia.edu/Biosafety-Biotoxins.html>

58. Naciones Unidas. 2011. Sistema Global Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (GHS). Cuarta edición revisada. Disponible en: https://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev04/Spanish/ST-SG-AC10-30-Rev4sp.pdf

59. NCh382:2013. 2013. Sustancias peligrosas - Clasificación. Disponible en: <http://www.inn.cl/nch3822013>

60. REACH Compliance GmbH. 2017. GHS hazard pictograms for download. Disponible en: <http://www.reach-compliance.ch/ghsclp/ghspictograms/>

61. Decreto 43. 2016. Aprueba el reglamento de almacenamiento de sustancias peligrosas. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1088802>

62. NCh2245:2015. 2015. Hoja de datos de seguridad para productos químicos - Contenido y orden de las secciones. Disponible en: <http://www.inn.cl/nch22452015>

63. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. 2010. TLVs and BEIs: based documentation of threshold limit values for chemical substances and physical agents & biological exposure indices. Disponible en: <https://www.acgih.org/forms/store/ProductFormPublic/documentation-of-the-threshold-limit-values-and-biological-exposure-indices-7th-ed>
64. Decreto 594. 2000. Aprueba reglamento sobre condiciones sanitarias y ambientales básicas en los lugares de trabajo. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=167766>
65. International Atomic Energy Agency (IAEA). 2011. Radiation Protection and Safety of Radiation Sources: International Basic Safety Standard. Disponible en: http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/p1531interim_web.pdf
66. Comisión Internacional de Protección Radiológica (ICRP). 2007. ICRP Publication 103. Recomendaciones 2007 de la Comisión Internacional de Protección Radiológica. Disponible en: http://www.icrp.org/docs/P103_Spanish.pdf
67. Decreto 133. 1984. Aprueba reglamento sobre autorizaciones para instalaciones radiactivas o equipos generadores de radiaciones ionizantes, personal que se desempeña en ellas, u opere tales equipos y otras actividades afines. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=9794>
68. Decreto 3. 1985. Aprueba reglamento de protección radiológica de instalaciones radioactivas. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=7282>
69. Comisión Internacional de Protección Radiológica (ICRP). 1977. ICRP Publication 26. Disponible en: http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/ANIB_1_3
70. Comisión Internacional de Protección Radiológica (ICRP). 1991. ICRP Publication 60. Disponible en: <http://www.icrp.org/publication.asp?id=ICRP%20Publication%2060>
71. Decreto 12. 1985. Aprueba reglamento para el transporte seguro de materiales radiactivos. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=7482>

72. International Atomic Energy Agency. 1970. Monitoring of Radioactive Contamination on Surfaces. Technical Reports Series No.120. Disponible en: http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/02/004/2004458.pdf
73. Ministerio del Medio Ambiente. Guía de recomendaciones para enfrentar emergencias con sustancias químicas 2010.
74. Oficina Nacional de Emergencia Ministerio del Interior (ONEMI). 2012. ACCEQUIM. Plan de coordinación para enfrentar emergencias y desastres por sustancias o materiales peligrosos. Disponible en: http://repositoriodigitalonemi.cl/web/bitstream/handle/2012/1682/ACCEQUIM_red.pdf?sequence=4
75. Ley 18.314. 1984. Determina conductas terroristas y fija su penalidad. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=29731>
76. Ley 17.798. 1972. Establece el control de armas. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=29291>
77. Decreto 157. 2005. Reglamento de pesticidas de uso sanitario y doméstico. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=262263>
78. Decreto Ley 3.557. 1981. Establece disposiciones sobre protección agrícola. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=7178>
79. Ley 19.558. 1998. Modifica el D.L. N° 3.557, de 1981, sobre normas de protección agrícola. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=97812>
80. Ley 19.695. 2000. Modifica el D.L. N° 3.557, de 1980, en materia de ventas de fertilizantes a granel. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=176467>
81. Ley 20.161. 2007. Modifica el Decreto Ley N° 3.557, de 1981, que establece disposiciones para la protección agrícola. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=258988>
82. Ley 20.275. 2008. Modifica el Decreto Ley N° 3.557, de 1981, que establece disposiciones para la protección agrícola, con el objeto de corregir la falsedad de la información declarada. Disponible en:

<https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=276937>

83. Ley 20.308. 2008. Sobre protección a los trabajadores en el uso de productos fitosanitarios. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=284009>

84. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2017. Plaguicidas y fertilizantes. Disponible en: <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/plaguicidas-y-fertilizantes>

85. International Atomic Energy Agency. 2000. Regulatory Control of Radioactive Discharges to the Environment, IAEA Standard Series, Safety Guide N°Ws-G-2.3, 2000. Disponible en: http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/p088_scr.pdf

86. The DOE/NRC Interagency Working Group on Radiological Dispersal Devices. 2003. Radiological dispersal devices: an initial study to identify radioactive materials of greatest concern and approaches to their tracking, tagging, and disposition. Disponible en:

<https://energy.gov/sites/prod/files/edg/media/RDDRPTF14MAYa.pdf>

87. Netherlands Forensic Institute (NFI). 2014. Taller sobre Disciplina Forense en Seguridad Nuclear, La Haya, Holanda, 22-23 Enero, 2014. Disponible en: <https://www.forensicinstitute.nl/news/news/2013/11/28/nuclear-security-summit-2014>

88. Resolución 1523 Exenta. 2001. Establece normas para la internación e introducción al medio ambiente de organismos vegetales vivos modificados de propagación. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=187630>

89. Resolución 4468 Exenta. 2010. Modifica Resolución N° 1.523 DE 2001, que establece normas para la internación e introducción al medio ambiente de organismos vegetales vivos modificados de propagación. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1016323>

90. Ley 20.120. 2006. Sobre la investigación científica en el ser humano, su genoma, y prohíbe la clonación humana. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=253478>

91. Ley 20.850. 2015. Crea un sistema de protección financiera para diagnósticos y tratamientos de alto costo y rinde homenaje póstumo a don Luis Ricarte Soto Gallegos. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1078148>

92. Decreto 160. 2009. Aprueba reglamento de seguridad para las instalaciones y operaciones de producción y refinación, transporte, almacenamiento, distribución y abastecimiento de combustibles líquidos. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1004120>
93. Decreto 29. 2013. Establece norma de emisión para incineración, coincineración y coprocesamiento y deroga decreto N°45, de 2007, del Ministerio Secretaría General de la Presidencia. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1054148>