



MANUAL

DE NORMAS DE

B I O S E G U R I D A D

Segunda Edición

2008

INDICE

<u>PRÓLOGO A LA SEGUNDA EDICIÓN</u>	<u>5</u>
<u>PARTE I. PRINCIPIOS GENERALES DE BIOSEGURIDAD</u>	<u>7</u>
1. OBJETIVOS GENERALES Y DEFINICIONES	7
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS DE BIOSEGURIDAD	9
3. EL RIESGO Y LOS NIVELES DE BIOSEGURIDAD	11
3.1. SITUACIONES DE RIESGO	12
3.2. CLASIFICACIÓN DEL RIESGO Y DE LOS LABORATORIOS DE TRABAJO BIOLÓGICO	15
3.3. BARRERAS DE CONTENCIÓN	16
3.4. NIVELES DE BIOSEGURIDAD	17
4. LIBERACIÓN INTENCIONADA	19
5. ORGANIZACIÓN DE UN PLAN DE BIOSEGURIDAD EN LAS INSTITUCIONES	21
5.1. COMITÉ INSTITUCIONAL DE BIOSEGURIDAD (CIB)	21
5.2. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE LA INSTITUCIÓN	22
6. PRÁCTICAS ESPECÍFICAS RELATIVAS A LA CONTENCIÓN	23
6.1. CONTENCIÓN FÍSICA	23
6.2. CONTENCIÓN BIOLÓGICA	23
6.3. USO DE LAS MOLÉCULAS DE ADN RECOMBINANTE, FUSIÓN CELULAR, MUTAGÉNESIS Y MANIPULACIÓN DE GENES	24
6.4. USO DE FÁRMACOS, RADIACIONES Y OTROS ELEMENTOS QUÍMICOS QUE CAUSEN DAÑO TISULAR	25
6.5. RELACIÓN ENTRE BIOSEGURIDAD Y MECANISMO DE PROTECCIÓN AMBIENTAL	25
7. DESCONTAMINACIÓN	27
7.1. AUTOCLAVE	28
7.2. DESINFECCIÓN QUÍMICA	28
7.3. INCINERACIÓN	29
<u>PARTE II. BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO</u>	<u>30</u>
8. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS	30
8.1. EVALUACIÓN DEL RIESGO MICROBIOLÓGICO	30
8.2. EVALUACIÓN DEL RIESGO MICROBIOLÓGICO DE MUESTRAS PARA LAS QUE SE DISPONE DE INFORMACIÓN LIMITADA	31
8.3. BACTERIAS	32
8.4. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE PLANTAS INFECTADAS CON MICROORGANISMOS PATÓGENOS.	35
8.5. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE LOS VIRUS	37
8.6. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE VECTORES VIRALES Y VIRUS QUIMÉRICOS	42
9. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	44

9.1. NIVELES DE BIOSEGURIDAD PARA EL TRABAJO CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	44
9.2. USO DE ANIMALES MODIFICADOS GENÉTICAMENTE	51
9.3. MANEJO DE LOS DESECHOS	53
10. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE PLANTAS DE EXPERIMENTACIÓN	55
11. BIOSEGURIDAD EN LAS INVESTIGACIONES QUE HACEN USO DE MOLÉCULAS DE ADN RECOMBINANTE	57
11.1. GENERALIDADES	57
11.2. NORMAS Y BARRERAS BIOLÓGICAS ESPECÍFICAS	59
11.3. CLASIFICACIÓN DE AGENTES ETIOLÓGICOS	67
11.4. REGULACIÓN SOBRE MANEJO Y LIBERACIÓN AL AMBIENTE DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE	67
12. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE ISÓTOPOS RADIATIVOS (RADIONÚCLIDOS)	68
12.1. CONCEPTOS Y DEFINICIONES GENERALES	68
12.2. ASPECTOS JURÍDICOS CHILENOS SOBRE EL PROBLEMA	71
12.3. ASPECTOS BÁSICOS PARA UN PROGRAMA DE PROTECCIÓN CONTRA LAS RADIACIONES	75
12.4. NORMAS GENERALES DE PROTECCIÓN PARA EL USO DE RADIOISÓTOPOS	80
12.5. DISEÑO DE LABORATORIO Y OTRAS INSTALACIONES	83
13. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE COMPUESTOS CANCERÍGENOS Y/O GENOTÓXICOS, Y/O CON POTENCIAL TERATOGENICO	84
13.1. CONCEPTOS Y DEFINICIONES	84
13.2. NORMAS PARA EL USO DE COMPUESTOS CARCINOGENICOS Y/O GENOTÓXICOS	85
13.3. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE COMPUESTOS CON POTENCIAL TERATOGENICO	87
13.4. NORMAS PARA EL USO DE COMPUESTOS CON POTENCIAL TERATOGENICO.	88
14. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE AGENTES QUÍMICOS DE RIESGO	90
14.1. GENERALIDADES	90
14.2. LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES	91
14.3. NORMAS GENERALES DE TRABAJO EN UN LABORATORIO QUÍMICO O CON AGENTES QUÍMICOS DE RIESGO	92
14.4. NORMAS ESPECÍFICAS PARA EL MANEJO DE AGENTES QUÍMICOS DE RIESGO	94
<u>REFERENCIAS Y LINKS PARA CONSULTAS</u>	<u>97</u>
<u>PARTE IV. ANEXOS</u>	<u>101</u>
ANEXO 1. GABINETES DE BIOSEGURIDAD BIOLÓGICA	101
ANEXO 2. DISEÑOS PARA LA INSTALACION DE UNO O MAS LABORATORIOS, DENTRO DE UNA UNIDAD, CON NIVELES DE BIOSEGURIDAD 3 O 4	102
ANEXO 3. CLASIFICACION BACTERIANA DE ACUERDO CON SU POTENCIAL RIESGO PARA UNA PERSONA O EL AMBIENTE EN RELACION CON EL NIVEL DE BIOSEGURIDAD	104
ANEXO 4. CLASIFICACION DE MICROORGANISMOS DE INTERES EN FITOPATOLOGIA DE ACUERDO CON SU POTENCIAL RIESGO PARA UNA PERSONA O PARA EL AMBIENTE	108
ANEXO 5. CLASIFICACION DE RADIOISOTOPOS DE ACUERDO A SU RELATIVA RADIOTOXICIDAD	116

ANEXO 6. PRINCIPALES PROPIEDADES Y MEDIDAS DE PROTECCION PARA ALGUNOS RADIONUCLIDOS DE USO COMUN EN INVESTIGACION	117
ANEXO 7. ALGUNAS PROPIEDADES SELECCIONADAS DE RADIOMUCLIDOS DE INTERES BIOLOGICO EN INVESTIGACION (NIH/USA 1991)	118
ANEXO 8. CARACTERÍSTICAS DEL H³	119
ANEXO 9. CARACTERÍSTICAS DEL C¹⁴	120
ANEXO 10. CARACTERÍSTICAS DEL P³²	121
ANEXO 11. CARACTERÍSTICAS DEL I¹²⁵	122
ANEXO 12. CALCULO APROXIMADO DE DOSIMETRIA PARA ALGUNOS RADIONUCLIDOS DE INTERES BIOLOGICO	123
ANEXO 13. COMPUESTOS CARCINOGENICOS	125
ANEXO 14. COMPUESTOS CON POTENCIAL TERATOGENICO	126
ANEXO 15. AGENTES QUIMICOS INCOMPATIBLES	127
ANEXO 16. EFECTO ADVERSO DE TIPO AGUDO O CRONICO EM EL HOMBRE DE ALGUNOS AGENTES QUIMICOS DE RIESGO	129
ANEXO 17. CLASIFICACION, DE USO EN EL INSTITUTO DE SALUD PUBLICA DE CHILE, DE LOS AGENTES QUÍMICOS SEGÚN SU GRADO DE RIESGO	132
ANEXO 18. RIESGOS ESPECÍFICOS Y PRECAUCIONES ACONSEJABLES PARA EL MANEJO DE AGENTES QUIMICOS DE RIESGO	136

Prólogo a la Segunda Edición

El año 1994, CONICYT publicó la primera edición del *Manual de Bioseguridad* del CONICYT. El manual contenía elementos básicos de seguridad para el trabajo en los laboratorios de investigación y/o desarrollos biológicos, bioquímicos y biotecnológicos. Esta publicación fue pionera recogiendo el esfuerzo realizado a nivel nacional para lidiar con el tema de la Bioseguridad con mucha seriedad. Como se menciona en el prólogo de la primera edición, el desarrollo de la tercera revolución biológica y de la ingeniería genética han abierto las puertas para que se manipule lo vivo, para que se mejore, modifique o acelere los procesos biológicos. Se enfatizó en ese entonces que ese fantástico avance del conocimiento no era exento de riesgos para los experimentadores, la ciudadanía y el medio ambiente. El permanente y vertiginoso avance científico de las últimas décadas ha permitido incorporar la manipulación génica y un sin número de otras metodologías de punta basadas en la ingeniería genética, al quehacer diario de los laboratorios de investigación y desarrollo. La implementación de estos avances en el laboratorio exige aún mayor responsabilidad y conciencia de los investigadores respecto a los riesgos potenciales de su quehacer para ellos mismos y para el entorno.

El primer objetivo de esta *Segunda edición del Manual de Bioseguridad* es actualizar, en consulta con pares científicos nacionales y extranjeros, las áreas ya cubiertas en la primera edición e incorporar áreas nuevas como el uso habitual de plantas y animales genéticamente modificados en el laboratorio de investigación.

El segundo objetivo de esta *Segunda edición* es apoyar la constitución y formalización de los Comités Institucionales de Bioseguridad (CIB) responsables de asegurar el cumplimiento de las normas establecidas en este manual.

Durante los catorce años transcurridos desde que se publicó la *Primera edición*, Chile ha realizado esfuerzos significativos para formalizar el trabajo en materia de Bioseguridad a través de regulaciones legales -específicas de acuerdo al caso- en los respectivos organismos estatales (CONAMA, SAG, SESMA, CCHEN, ISP, ACHS, IST, SERNAPESCA). Los investigadores financiados por CONICYT deben adherir a las normas de Bioseguridad del presente manual y a la vez son responsables de informarse y cumplir con la regulación legal vigente en el país.

El equipo a cargo de la presente edición agradece y reconoce el trabajo fundamental del comité a cargo de la *Primera edición*¹ el cual ha servido de base para esta edición.

¹ Miembros del Comité a cargo de la Primera edición (1994)

Jorge Allende, Margarita Carú, Pilar Carvallo, Romilio Espejo, Patricio González, Luz María Pérez y Juan Olate de la Universidad de Chile.

Arnaldo Foradori, Katia Gysling, Guido Mora, Manuel Rodríguez y Arturo Yudelevich de la P. Universidad Católica de Chile.

Gloria León de la Universidad Austral de Chile.

José Iglesias y Vicente Orellana de la Comisión Chilena de Energía Nuclear.

Manuel Sepúlveda del Instituto de Salud Pública.

Parte I. Principios generales de Bioseguridad

1. Objetivos generales y definiciones

La idea de encontrar mecanismos de protección frente al manejo de productos tóxicos, microorganismos patógenos, organismos vivos genéticamente modificados o material clínico contaminado con patógenos, no es nueva y en muchos países se han dado normas, particularmente relacionadas con estos elementos de riesgo.

Un segundo impulso para generar tales normativas se dio al producirse un aumento acoplado y significativo del uso de materiales radioactivos en el seno de los laboratorios.

Un tercer factor ha también estimulado la necesidad de fomentar normas de manejo y conductas en los laboratorios, y dice relación con el manejo de microorganismos y organismos genéticamente modificados, así como con el empleo de técnicas de Biología Molecular, basado en la tecnología del ADN Recombinante, Fusión Celular, Mutagénesis y otras. Es decir, manejos relacionados con la Ingeniería Genética.

Es necesario enfatizar que, particularmente este último aspecto ha concitado especial preocupación tanto en la comunidad científica como en la ciudadanía en su conjunto, considerando especialmente que es la base de un incremento casi explosivo tanto de investigación como de desarrollo de Biotecnologías con miras a solucionar problemas de salud, producción de alimentos, energía y descontaminación ambiental.

Todo este conjunto de actividades, miradas desde un punto de vista general, constituyen una potencial fuente de diseminación de agentes de agresión a un ecosistema. Ello no significa que todos los productos industriales o el trabajo experimental constituyan un problema de riesgo, la experiencia así lo demuestra, pero sin duda hay una parte de ellos que como dijimos encierran un peligro potencial, ya sea porque de este riesgo se tiene pleno conocimiento o porque aún no se ha logrado establecer su real significado.

De ahí entonces que es absolutamente imprescindible que los laboratorios de investigación, la industria y los ensayos de campo, se efectúen en condiciones absolutamente controladas y que entonces información y prevención constituyen la piedra angular en materia de Bioseguridad.

Debe mirarse esta legítima preocupación como el intento de proteger el campo de la investigación y no de detenerlo. Apunta a buscar soluciones a esos problemas ya indicados. Insistimos, en que al dar normas de seguridad en este campo, sólo se pretende lograr que estas actividades se efectúen en forma controlada de manera tal que se garantice, por un lado, la seguridad personal (integridad física) de quienes están directamente en el proceso de investigación y producción, y, por otro lado y de manera indisoluble, la seguridad del ecosistema adonde van a ir directa o indirectamente estos productos, provocando agresión a sus componentes bióticos o abióticos.

Del párrafo anterior se desprende, por tanto, que "Bioseguridad" comprende un conjunto de medidas y disposiciones, algunas de las cuales son suficientes como para ser materia de una ley, las que tienen como principal objetivo la protección humana, animal, vegetal y ambiental.

Es, por tanto, legítimo pensar que dentro de este campo tiene también cabida la protección, contra otros elementos que no son estrictamente de origen biológico, pero que si son capaces de constituir riesgo y agresión, nos referimos a las medidas de protección en el manejo de las siguientes situaciones:

1. Manejo de tóxicas, sean o no capaces de causar irritación tisular, así como inflamables o explosivas.
2. Manejo de Energizantes.
3. Manejo de Cancerígenos.
4. Manejo de Hormonas, Antibióticos y otros fármacos, especialmente de efecto sobre el embrión.
5. Descontaminación y protección ambiental, estrechamente ligada a la eliminación al ambiente del más variado tipo de productos químicos, biológicos, radiaciones o desechos industriales. Escape al ambiente de organismos exóticos o genéticamente modificados.

En una visión lo más amplia posible del problema de protección, tampoco pueden excluirse las medidas tendientes a eliminar el riesgo de factores físicos, tales como:

1. Radiaciones no ionizantes (Luz ultravioleta, Infrarrojo, Microondas), Rayo Láser
2. Ultrasonido
3. Vibraciones
4. Ruidos
5. Quemaduras
6. Exposición prolongada a altas o bajas temperaturas

El punto relativo al riesgo de factores físicos podría estimarse como más directamente relacionado a acciones de salud, de responsabilidad de los organismos pertinentes, sin embargo, es evidente como ya lo señalamos, que ellos están tan directa y estrechamente relacionados con el quehacer científico que en un análisis global del problema no puede excluirse.

2. Objetivos específicos de Bioseguridad

Los objetivos específicos de Bioseguridad comprenden una serie de acciones tendientes al control del riesgo que encierran las actividades en las siguientes áreas:

1. Manipulación de microorganismos patógenos.
2. Usos de la tecnología del ADN Recombinante.
3. Manipulación del material infeccioso.
4. Uso de fármacos, radiaciones y elementos químicos de efecto dañino en el hombre, probado o no bien definido.
5. Medidas de protección del ambiente.
6. Manipulación genética de plantas y animales.

Definición de patógeno

Se define como tal a un microorganismo capaz de causar enfermedades tanto en especies vegetales como animales, incluyendo al hombre e incluso otros microorganismos, lo que se manifiesta por sintomatología que afecta drásticamente la fisiología del infectado, con el riesgo de causarle la muerte. El microorganismo patógeno puede ser una especie dentro de una familia, o una familia dentro de un género, o una cepa particular dentro del género. En algunas circunstancias, una cepa definida como no patógena puede comportarse como patógeno oportunista por baja en las defensas del hospedero. El concepto de patógeno también se aplica a plásmidos, virus y viroides. Por otro lado, se ha definido como "no patógenos" las bacterias probióticas, que además de ser inocuas para el hospedero que las cobija, le aportan algún tipo de beneficio.

En la **Figura 1** se muestran las distintas áreas donde es necesario aplicar las directrices de Bioseguridad.

Figura 1



3. El riesgo y los niveles de Bioseguridad

El Riesgo Biológico es aquel susceptible de ser producido por una exposición no controlada a Agentes Biológicos. Se entiende por agente biológico “microorganismos, incluidos los modificados genéticamente, los cultivos celulares y los endoparásitos humanos, que pueden provocar cualquier tipo de infección, alergia o toxicidad” (Directiva europea nº 90/679). Existe un símbolo internacional que representa el Riesgo Biológico (Figura 2). Este símbolo y signo internacional de peligro biológico debe colocarse en las puertas de los locales donde se **manipulen Agentes Biológicos del grupo de riesgo 2 o superior** (para una definición de cada grupo de riesgo ver cuadro 2 en pág. 13, y lista de Agentes Biológicos en anexo 3).



Figura 2. Símbolo Internacional de Riesgo Biológico

Entre los agentes Biopeligrosos se encuentran: ciertas bacterias, hongos, virus, rickettsias, chlamidias, parásitos, productos recombinantes, alérgenos, cultivos de células humanas y animales y los agentes infecciosos potenciales que contengan estas células, viroides, **priones** y otros agentes infecciosos (Fuente: Universidad de Alicante²).

El riesgo concierne a aquel que trabaja directamente con estos agentes biopeligrosos, a aquellos que trabajan en el mismo lugar físico y también a todos aquellos que estando fuera del lugar podrían estar conscientemente o inconscientemente en contacto con los desechos producidos por este trabajo de laboratorio.

De ahí entonces que es necesario tener claridad sobre las diferentes situaciones de riesgo, así como sobre los niveles de Bioseguridad que permitan proteger internamente y externamente al Hombre de estas contingencias.

² Universidad de Alicante,

http://www.ua.es/va/centros/facu.ciencias/seguridad/seguridad/hab_seg_lab_biol.htm#B.

Finalmente, la asignación de un nivel de Bioseguridad deberá tener en consideración el agente biológico utilizado, las instalaciones disponibles y el equipo; y las prácticas y los procedimientos necesarios para trabajar con seguridad en el laboratorio.

3.1. Situaciones de riesgo

Riesgos por agentes biológicos

Microorganismos

El riesgo de infección por microorganismos en el laboratorio se produce por inhalación, ingestión, contacto directo, a través de la piel o mucosas erosionadas y/o sanas y a través de la conjuntiva (Cuadro 1).

Cuadro 1. Las vías de infecciones más frecuentes adquiridas en el laboratorio.

A través de la boca

- Comer, beber y fumar en el laboratorio.
- Pipetear con la boca.
- Transferencia de microorganismos a la boca mediante los dedos o utensilios contaminados (bolígrafos, lápices, etc.).

A través de la piel

- Inoculación accidental con una aguja hipodérmica, otros instrumentos punzantes o vidrios.
- Cortes, rasguños.

A través de los ojos

- Salpicaduras de materiales infecciosos en los ojos.
- Transferencia de microorganismos a los ojos mediante dedos contaminados.

A través de los pulmones

- Inhalación de microorganismos transportados por el aire.

Fuente: Universidad de Alicante,

http://www.ua.es/va/centros/facu.ciencias/seguridad/seguridad/hab_seg_lab_biol.htm#B.

Los agentes biológicos se clasifican en cuatro grupos dependiendo de su nivel de riesgo de infección (cuadro 2).

Cuadro 2. Clasificación de los microorganismos infecciosos por grupos de riesgo.

Grupo de riesgo 1 (riesgo individual y poblacional escaso o nulo)

Microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales.

Grupo de riesgo 2 (riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo)

Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades humanas o animales pero que tienen pocas probabilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, el ganado o el medio ambiente. La exposición en el laboratorio puede provocar una infección grave, pero existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces y el riesgo de propagación es limitado.

Grupo de riesgo 3 (riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo)

Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves, pero que de ordinario no se propagan de un individuo a otro. Existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

Grupo de riesgo 4 (riesgo individual y poblacional elevado)

Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades graves en el ser humano o los animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente. Normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

(Fuente: Manual de Bioseguridad 2007; OMS)

Animales de laboratorio

El riesgo de infección por animales de laboratorio se produce por manipulación inadecuada de jaulas que los contienen, inhalación de polvo contaminado con el desecho de los animales, pelos o plumas, mordeduras, rasguños o auto inoculación involuntaria durante la manipulación de ellos.

Plantas de laboratorio

En general, se considera mínimo el riesgo a la salud humana asociado al manejo de plantas genéticamente modificadas (GM). Sin embargo, las implicancias en la salud humana y animal requieren mayor atención en situaciones en que las plantas producen productos con actividad biológica nociva, tales como productos tóxicos, alérgenos, etc. Además, las fases de ensayo de campo requieren especial cuidado y resguardo para impedir la contaminación genética de las parcelas vecinas y entonces proteger a los investigadores y sus Instituciones de cualquier acción legal.

Riesgos por agentes químicos

El riesgo a que se está expuesto por la manipulación de agentes químicos se produce por:

1. Ingestión, inhalación y/o contacto con la piel, tejidos, mucosas u ojos, de sustancias tóxicas, irritantes, corrosivas y/o nocivas.
2. Grado de inflamabilidad de la sustancia.
3. Capacidad de las sustancias de liberar energía.

Riesgos por agentes físicos

El riesgo a que se está expuesto por la manipulación o ingestión de gases o partículas radioactivas; exposición a radiaciones ionizantes y/o no ionizantes; exposición a ruidos y vibraciones o a una carga calórica sobre la superficie corporal y quemaduras, especialmente aquellas que están sin protección.

3.2. Clasificación del riesgo y de los laboratorios de trabajo biológico

Los agentes biológicos, químicos y físicos, se clasifican según su grado de riesgo tanto para el individuo como para la comunidad en:

Grupo I

Agentes que en general constituyen un bajo riesgo para los individuos y la comunidad.

Grupo II

Agentes que constituyen un riesgo moderado para los individuos y limitado para la comunidad.

Grupo III

Agentes que constituyen un alto riesgo para los individuos y bajo para la comunidad.

Grupo IV

Agentes que constituyen un alto riesgo para los individuos y para la comunidad.

En relación con el grado de riesgo los laboratorios que manipulan los elementos que generan este tipo de situación, se clasifican actualmente en 3 categorías:

Laboratorio Básico

Es un recinto de diseño estándar, en el cual la mayoría del trabajo se realiza en el mesón y se puede trabajar sobre éste con agentes de riesgo del grupo I y II. Para agentes del grupo II, se recomienda el uso de gabinete de Bioseguridad clase I.

Laboratorio de contención

Es un recinto cuyo diseño contempla un acceso restringido y barreras de contención que protegen al operador. Se puede trabajar con agentes de riesgo del grupo III. El laboratorio debe estar habilitado con un gabinete de Bioseguridad apropiado para el patógeno que se manipula.

Laboratorio de contención máxima

Es un recinto separado o convenientemente aislado, con sistemas de apoyo exclusivo y cuyo diseño incluye barreras de contención que dan protección máxima al personal y/o comunidad y se puede trabajar con agentes de riesgo del grupo IV.

La prevención del escape y dispersión de agentes de riesgo, se logra mediante las barreras de contención.

3.3. Barreras de contención

Las barreras de contención son aquellas que previenen el escape y dispersión de agentes de riesgo.

Barrera primaria

Es aquella que protege al personal y al ambiente inmediato del agente de riesgo (vestimenta de uso exclusivo, gabinete de Bioseguridad y equipos provistos de dispositivos de seguridad).

Barrera secundaria

Es aquella que protege el ambiente externo contra los agentes de riesgo (diseño del laboratorio e implementación de equipos de seguridad de acuerdo al nivel de Bioseguridad).

Barrera microbiológica

Es un dispositivo o sistema que evita o limita la migración de microorganismos entre los espacios situados a ambos lados del mismo y permite controlar la concentración de microorganismos en el ambiente, dentro de límites prefijados. Tiene como objetivo proteger al operador o al operador y al proceso.

Barrera microbiológica parcial

Es un dispositivo o sistema que limita la migración de microorganismos entre los ambientes situados a ambos lados del mismo. En este tipo de barrera se recomiendan Prefiltros, Filtros HEPA³ así como gabinete de BS clase I o II A o B (ver Anexo 1), lo cual dependerá del tipo de trabajo que se efectúa en un determinado laboratorio.

Barrera microbiológica absoluta

Es un dispositivo o sistema hermético, a prueba de filtraciones de aire o gas, que evita en forma total la migración de microorganismos entre el ambiente confinado por la barrera y el ambiente exterior de la misma. La barrera microbiológica absoluta puede confinar al producto o proceso, dejando al operador fuera de la misma o viceversa. En este caso se recomienda gabinete de BS tipo III (ver Anexo 1).

³ HEPA: filtros de alta eficiencia para el control de partículas en suspensión

Barrera química

Son dispositivos o sistemas que protegen al operador del contacto con sustancias irritantes, nocivas, tóxicas, corrosivas, líquidos inflamables, sustancias productoras de fuego, agentes oxidantes y sustancias explosivas. En este caso se recomiendan los gabinetes de seguridad química clase A, B o C (ver pág. 95).

Barrera física

Son dispositivos o sistemas de protección individual o colectiva que protegen contra las radiaciones ionizantes, no ionizantes, ruidos, carga calórica, quemaduras y vibraciones excesivas.

3.4. Niveles de Bioseguridad

De acuerdo con el nivel de riesgo, el tipo de laboratorio, la barrera de contención requerida, los procedimientos y técnicas a usar, se han establecido los siguientes niveles de Bioseguridad.

Nivel de Bioseguridad I

Es aquel que corresponde a las actividades desarrolladas en un laboratorio básico, por personal adiestrado en los procedimientos que se ejecutan en él. En este nivel 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 el nivel de Bioseguridad I no se requiere equipo especial ni un diseño específico de las instalaciones. El personal de estos laboratorios es generalmente supervisado por un científico con entrenamiento en microbiología.

Nivel de Bioseguridad II

Es aquel que corresponde a las actividades desarrolladas en un laboratorio básico, por personal adiestrado en el manejo de agentes de riesgo del grupo II. Es similar al nivel I y en él se manejan agentes de peligro moderado hacia el personal y el ambiente, pero difiere del nivel I en las siguientes características:

1. El personal de laboratorio tiene entrenamiento específico en el manejo de agentes patógenos.
2. El acceso al laboratorio es restringido cuando se está realizando algún trabajo.
3. Se toman precauciones extremas con instrumentos punzo cortantes contaminados.
4. Ciertos procedimientos en los cuales pueden salpicar los agentes o aerosoles se llevan a cabo en gabinetes de trabajo microbiológico.

Nivel de Bioseguridad III

Es aquel que corresponde a las actividades desarrolladas en el laboratorio de contención. El personal debe contar con adiestramiento específico para el manejo de agentes de alto riesgo clasificados en el grupo de riesgo III. En el laboratorio se realiza trabajo con agentes que pueden causar un daño serio y potencialmente mortal como resultado de la inhalación o exposición a los mismos. El laboratorio cuenta con un diseño y características especiales tendientes a proteger al operador y al ambiente. Todos los materiales son manipulados utilizando vestimenta y equipo de protección siguiendo protocolos rigurosos. Los laboratorios se mantienen con una presión de aire negativa, lo cual ayuda a impedir que los agentes nocivos escapen al ambiente.

Nivel de Bioseguridad IV

Es aquel que corresponde a las actividades desarrolladas en el laboratorio de contención máxima. Este nivel es el que se utiliza para trabajar con agentes biológicos clasificados en el grupo de riesgo IV por representar un alto riesgo individual de contagio y que además son un riesgo para la vida. Los agentes nuevos que presentan características antigénicas, patogénicas u otras similares a agentes de nivel III y IV son confinados a nivel IV hasta que exista suficiente información científica para establecer a cual grupo de riesgo pertenecen.

El personal que trabaja en los laboratorios de nivel IV tiene entrenamiento específico y extensivo en el manejo de agentes infecciosos, y cuenta con entrenamiento para trabajar en el ambiente estéril y controlado. El laboratorio cuenta con un diseño y características especiales tendientes a proteger al operador y al ambiente. Todos los materiales son manipulados utilizando vestimenta y equipo de protección de características superiores a las exigidas para el trabajo en un laboratorio de nivel III. Los trajes están diseñados para cubrir la totalidad del cuerpo, presentan un sistema de respiración individual asociado y una leve *sobrepresión* interna para evitar así la entrada accidental de partículas infecciosas. Los laboratorios se mantienen con una presión de aire negativa, lo cual ayuda a impedir que los agentes nocivos escapen al ambiente.

4. Liberación intencionada

Bajo este nombre se engloba cualquier experimento con producto comercial en desarrollo que contiene organismos vivos y que se ensaya bajo las siguientes circunstancias:

- 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. 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 de consentimiento informado aceptado por los voluntarios o sus representantes legales de acuerdo a la normativa de la Comisión de Ética de la institución que patrocina el estudio.

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, de microorganismos.

El rol que le compete a los Comités Institucionales de Bioseguridad (CIB: *ver capítulo 5 para una descripción de los CIB y sus responsabilidades*) es evaluar todos aquellos proyectos que impliquen **Liberación Intencionada** de cualquier microorganismo catalogado, en general, 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.

Caben dentro de este tipo de vigilancia y registro, además, las medidas destinadas a la autorización de importación de microorganismos patógenos genéticamente modificados, o de actividad biológica desconocida, como también plantas transgénicas (cuya internación debe ser además autorizada por el Servicio Agrícola y Ganadero; SAG) que son remitidos para su estudio a algún centro especializado.

Están igualmente sometidos a este tipo de vigilancia y sujetos a las normas respectivas, los experimentos con microorganismos, o plantas transgénicas que por razones especiales se solicitan efectuar en lugares diferentes a los laboratorios o Instituciones de origen. En el caso de la liberación intencionada de plantas genéticamente modificadas (GM), se deben obtener los permisos correspondientes en el SAG (Resolución 1523/2001 “Establece normas para la internación e introducción al medio ambiente de Organismos Vegetales Vivos Modificados de Propagación”).

Se estiman a lo menos tres circunstancias de excepción de estas normas de control, aún 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.

5. Organización de un plan de Bioseguridad en las instituciones

Un plan de Bioseguridad, para lograr sus objetivos específicos, no podrá ponerse en práctica si no se define con claridad la organización que tendrá a su cargo la vigilancia para el cumplimiento de las normativas que lo regulen, y de acuerdo con la experiencia y recomendaciones que ya están en práctica en otros países, debe contar con:

- *Comité Institucional de Bioseguridad (CIB).*
- *Manual(es) de procedimientos institucional* en base a las Normativas internacionales y el manual de de Bioseguridad de CONICYT.

5.1. Comité Institucional de Bioseguridad (CIB)

Las instituciones públicas o privadas que desarrollan investigación básica o aplicada que trabajan en campos definidos de riesgo para la seguridad personal, comunitaria o ambiental, son el nivel primario de responsabilidad frente a su personal y a la comunidad, la que podría verse afectada directa o indirectamente en caso de no observarse rigurosamente las normativas establecidas en el Manual de Bioseguridad.

De acuerdo a las características propias de organización y tamaño de las instituciones se deben establecer uno o más Comités Institucionales de Bioseguridad (CIB) de modo de poder atender las necesidades de los investigadores y el control de las actividades.

Estos Comités deben:

1. Velar por el cumplimiento de las normativas establecidas en el Manual de Bioseguridad del CONICYT.
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. Velar por la capacitación técnica de su personal. Desarrollar un programa de prevención de accidentes, y en caso de ocurrir, investigarlos y evaluarlos.
5. Mantener un registro de las actividades de la Institución, con descripción de los proyectos de investigación en desarrollo y las recomendaciones y fiscalizaciones realizadas, al que debe tener acceso CONICYT cuando sea necesario.

5.2. Manual de procedimientos de la institución

Un Manual de Procedimientos de la Institución constituye un importante elemento de trabajo que determina los procedimientos específicos en cada institución. Su contenido debe 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, debe contener un glosario de términos que facilite la comprensión y homogeneidad del lenguaje técnico y consecuentemente evitar equívocos. Cada CIB deberá preocuparse de la difusión al interior de la institución del **Manual de Normas de Bioseguridad de CONICYT 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 debe orientarse dentro de los siguientes aspectos:

1. Introducción y especificación de objetivos.
2. Organización del CIB de la institución.
3. Recomendaciones para el uso y seguridad, de acuerdo con las actividades de los laboratorios respectivos y con las características propias de la institución. Debe especificarse los procedimientos explícitos para cada actividad relacionada con Bioseguridad (ver Figura 1) indicando el nombre de los encargados, lugares físicos, señalética, formas de desecho de sustancias químicas, de material biológico, objetos corto-punzantes etc.

6. Prácticas específicas relativas a la contención

Por contención se entiende el uso de una serie de procedimientos, mecanismos, así como adecuaciones físicas de laboratorios y áreas de trabajo, cuya finalidad es evitar la diseminación de los agentes de riesgo.

6.1 Contención Física

Se refiere al uso de edificios especiales, equipos y procedimientos que permitan prevenir el escape de microorganismos, y a su vez comprende:

1. Prácticas mínimas y generales de un laboratorio que trabaja con microorganismos o material infeccioso.
2. Capacitación del personal en métodos de trabajo aséptico, control de accidentes, conducta dentro del laboratorio, acceso y circulación.
3. Disposición, eliminación de material contaminado y procedimientos de descontaminación.
4. Uso de instrumentos y equipamientos en las categorías de:
 - Instrumentos y equipos pequeños (pipetas, técnicas de siembra y recolección).
 - Centrífugas, Fotómetros, Electroforesis, equipos de Inmunología, Fermentadores, y en general equipos que generan aerosoles.
5. Establecer y especificar los niveles de contención física, siguiendo la experiencia y normativas internacionales.
6. Establecer medidas y métodos especiales y equipos de contención.
7. Instalaciones e infraestructura de los Laboratorios.

6.2. Contención Biológica

Se refiere a las medidas de seguridad en el uso y manipulación de microorganismos y vectores que han sufrido transformaciones genéticas, y a los cuales no se les debe dar la posibilidad de sobrevivencia o reproducción en el medio exterior, sino en condiciones artificiales y controladas en el laboratorio.

Para lograr este mecanismo de control se debe:

1. Establecer los niveles de contención biológica para los sistemas Hospedero-Vector y que, de acuerdo a normativas internacionales son:

- Sistema Hospedero-Vector₁ o nivel moderado de contención, compatibles con los niveles de BS- 1-2 y 3.
 - Sistema Hospedero-Vector₂ o nivel alto de contención, compatibles con el nivel de BS-4.
2. Establecer, por las autoridades correspondientes, los mecanismos de certificación de Sistemas Hospedero-Vector, así como cualquiera ulterior modificación que ellos experimenten, y para lo cual es necesario conocer las características biológicas de ellos.
 3. Hacer una descripción general de los experimentos previstos con estos sistemas, y además, establecer una clasificación de microorganismos de acuerdo a su peligrosidad, según las normas internacionales y de la oficina de Bioseguridad del C.D.C. de Atlanta, y a cuya manipulación debe aplicarse el nivel de contención física o biológica respectiva. Esta clasificación comprenderá a:
 - Agentes etiológicos bacterianos, virales, micóticos, rickettsiales, clamidiales y parasitarios.
 - Agentes oncogénicos.
 - Agentes de Patología Animal.
 - Agentes de Patología Vegetal.
 - Bacterias Comensales, Oportunistas y Saprofitos estrictos.
 4. Establecer los sistemas de contención primaria y liberación intencionada.
 5. Establecer el nivel de responsabilidad en el desarrollo del proyecto y de los experimentos, y desarrollar mecanismos de capacitación en BS del personal.

6.3. Uso de las moléculas de ADN recombinante, fusión celular, mutagénesis y manipulación de genes

El propósito de esta normativa es regular el trabajo biológico que utiliza métodos para construir, manipular y usar:

- Moléculas de ADN Recombinante.
- Organismos y Virus que lo contienen.
- Experimentos de fusión celular y mutagénesis, introducción de genes en hospederos microbianos, animales, vegetales, o células de mamíferos.

Para lograr este propósito se deberá:

- Definir los objetivos que se propone el Laboratorio o Institución en este campo y los experimentos previstos.
- Definir los niveles de contención física y biológica que correspondan y aplicarlos a la definición de objetivos señalados en el proyecto y a los experimentos que se desea realizar.

- Establecer si hay en estos proyectos liberación intencionada.
- Estudiar si los objetivos son compatibles con un desarrollo experimental que permita establecer algunas excepciones a las normativas de contención.
- Establecer el nivel de responsabilidades en el desarrollo de los proyectos y experimentos, así como el nivel de capacitación en Bioseguridad del personal a cargo de ellos.

6.4. Uso de fármacos, radiaciones y otros elementos químicos que causen daño tisular

La especificación de estas normativas debe estudiarse a la luz de lo dispuesto por el Código Sanitario y otras disposiciones sanitarias vigentes. En todo caso, ellas deben regular a lo menos:

- El uso de estos elementos previamente aprobados por los Servicios de Salud, pero que a pesar de ello envuelven riesgos, como es el caso de algunas drogas, sustancias químicas tóxicas e irritantes, cancerígenos, teratogénicos (que causan daño sobre el embrión), antibióticos, manipulación de radioisótopos y radiaciones.
- La aprobación de nuevos fármacos y productos biológicos. Las medidas de seguridad industrial y de instituciones que laboran con productos irritantes tóxicos, alérgicos, cancerígenos o que tienen efectos secundarios sobre tejidos humanos diferenciados o embrionarios.
- El uso de aditivos alimentarios, fármacos o drogas en la tecnología de desarrollo de animales de consumo.
- El uso de pesticidas.
- Establecer los niveles de control y responsabilidades en el manejo de estos elementos.

6.5. Relación entre Bioseguridad y mecanismo de protección ambiental

En este aspecto del problema, al igual que en aquellos que se especificaron anteriormente, hay una importante connotación legal, en el sentido que el Código Sanitario y/o algunas otras disposiciones legales emanadas de las autoridades correspondientes deben ser consideradas.

No hay duda, en todo caso, que este aspecto está íntimamente relacionado con las actividades, especialmente de uso de microorganismos, manipulación y eliminación de material contaminado, de desechos hospitalarios, de laboratorios e industrias, tanto en su aspecto general como de aquellas que manipulen microorganismos, ADN

Recombinante, o productos biológicos, y por tanto, que caen dentro de la definición y objetivos de la Bioseguridad.

Consecuentemente, debe ser una responsabilidad de los CIB, además de lo ya establecido, colaborar con los organismos de Gobierno en la puesta en marcha de políticas de control y regulación de la Bioseguridad a nivel nacional, particularmente en áreas como:

- Polución ambiental, en los variados aspectos que ella comprende.
- Eliminación de residuos tóxicos, excretas y basura en general.
- Eliminación de elementos radioactivos.
- Mecanismos de protección ambiental y de recursos naturales.
- Mecanismos de protección de la capa de Ozono.
- Sobre exposición a las radiaciones naturales y trabajo en ambientes contaminados o extremos para el hombre (alta temperatura-humedad-frío-presión).
- Autorizar, controlar o cancelar, la puesta en marcha de experimentos de campo que utilicen microorganismos vivos o genéticamente modificados, plantas transgénicas, o productos biológicos en etapa experimental para obtener licencia de expendio comercial.
- Establecer los niveles de responsabilidad en la puesta en marcha de las disposiciones legales.

7. Descontaminación⁴

“La descontaminación es uno de los principios fundamentales de la Bioseguridad”. Se refiere por un lado, a la **esterilización** o destrucción completa de todos los microorganismos incluyendo las esporas bacterianas y, por otro lado, a la **desinfección** o destrucción y eliminación de tipos precisos de microorganismos.

Es responsabilidad del **Director del Laboratorio** asegurar que todos los miembros del personal del Laboratorio sean capacitados sobre el tema y, a su vez, es responsabilidad de los miembros 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 con las materias infecciosas. La superficie y los mesones deben ser descontaminados después de cada desplomo 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.

A continuación mencionamos las metodologías adecuadas para laboratorios de nivel 1 y nivel 2 los cuales representan la mayoría de nuestros laboratorios.

Para laboratorios de niveles 3 y 4, se recomienda revisar el documento emitido por la Public Health Agency of Canada e intitulado “The Laboratory Biosafety Guidelines”, 3ª Edición 2004.

(http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/lbg-ldmbl-04/ch8_e.html)

⁴ Esta sección es una libre traducción del documento *The Laboratory Biosafety Guidelines*, 3rd Edition (2004), editado por la Agencia de Salud Pública de Canadá (http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/lbg-ldmbl-04/ch8_e.html).

7.1. 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 en 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 Comités Institucionales de Bioseguridad (CIBs) deberán 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).

7.2. 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 encapsulados. Las micobacterias y los virus no-encapsulados son menos sensibles; las esporas bacterianas y los quistes de protozoarios son generalmente los más resistentes.

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 deben 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 contaminar artificialmente una superficie, y luego descontaminarla con una dilución apropiada del desinfectante el cual luego debe ser neutralizado. Finalmente, se debe verificar que todos los microorganismos han sido eliminados.

7.3. 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 y de acuerdo a la normativa para que sean retirados de los laboratorios por las empresas certificadas que se encuentran operando en nuestro país. La responsabilidad de nuestros laboratorios recae entonces, por un lado, en el almacenamiento cuidadoso dentro de un congelador, de uso exclusivo, a -20°C , 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.

Parte II. Bioseguridad en el laboratorio

8. Bioseguridad en el manejo de microorganismos patógenos

8.1. Evaluación del riesgo microbiológico

El pilar de la práctica de la Bioseguridad es la evaluación del riesgo. Aunque existen muchas herramientas para ayudar a evaluar el riesgo que implica un procedimiento o un experimento determinado, el componente más importante es el juicio profesional.

Las evaluaciones del riesgo deben ser efectuadas por las personas que mejor conozcan las características peculiares de los organismos con los que se va a trabajar, el equipo y los procedimientos que van a emplearse, los modelos animales que pueden utilizarse y el equipo y los medios de contención disponibles. El director o investigador principal del proyecto o laboratorio es el responsable de asegurar que se realicen de modo oportuno las evaluaciones de riesgo más apropiadas y de colaborar estrechamente con el Comité Institucional de Bioseguridad (CIB) y el personal de Bioseguridad de la institución con el fin de velar por que se disponga del equipo y los medios apropiados para el trabajo que está previsto llevar a cabo. Una vez terminadas, las evaluaciones del riesgo deben 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.

Cuando exista duda sobre la norma de Bioseguridad aplicable en un determinado caso es necesario recabar información y hacer una evaluación de riesgo microbiológico previa a la autorización para realizar dichos experimentos.

Una de las herramientas más útiles de que se dispone para llevar a cabo una evaluación del riesgo microbiológico es la asignación de los agentes microbiológicos a uno de los grupos de riesgo (véase el listado más adelante). Sin embargo, la mera consulta del grupo de riesgo a que pertenece cierto agente no basta para realizar una evaluación del riesgo.

Según proceda, existen otros 11 factores que hay que tener en cuenta, y que son los siguientes:

1. La patogenicidad del agente y la dosis infectiva.
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, por ingestión).
5. La estabilidad del agente en el ambiente.

6. La concentración del agente y el volumen del material concentrado que va a manipularse.
7. La presencia de un hospedero apropiado (personas o animales).
8. La información disponible procedente de estudios en animales y de notificaciones de infecciones adquiridas en el laboratorio o de informes clínicos.
9. La actividad prevista en el laboratorio (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.

Sobre la base de la información obtenida durante la evaluación de riesgos, se podrá asignar un nivel de Bioseguridad al trabajo previsto, seleccionar el equipo de protección apropiado para el personal, y elaborar procedimientos normalizados de trabajo que incorporen otras intervenciones de seguridad con el fin de velar por la máxima seguridad en la realización del trabajo.

8.2. Evaluación del riesgo microbiológico de muestras para las que se dispone de información limitada

El procedimiento de evaluación del riesgo descrito anteriormente funciona bien cuando se dispone de información suficiente. Sin embargo, en algunas situaciones no hay información suficiente para llevar a cabo una evaluación apropiada de los riesgos, como ocurre con las muestras clínicas o epidemiológicas recogidas sobre el terreno. En esos casos, conviene que la manipulación de las muestras se realice con prudencia.

- Deben adoptarse precauciones especiales y emplearse protecciones de barrera (guantes, batas, protección ocular) cada vez que se obtengan muestras de pacientes.
- Las prácticas y los procedimientos básicos de contención del nivel de Bioseguridad 2 (BS-2) deben ser el requisito mínimo para la manipulación de muestras.
- El transporte de muestras debe respetar las normas y reglamentos nacionales o internacionales.

Quizá se disponga de alguna información que ayude a determinar el riesgo que entraña manipular esas muestras:

- Datos médicos sobre el paciente.
- Datos epidemiológicos (datos de morbilidad y mortalidad, presunta vía de transmisión, otros datos de la investigación de brotes).

- Información sobre el origen geográfico de la muestra. Si se producen brotes de enfermedad de etiología desconocida, las autoridades nacionales competentes o la OMS pueden elaborar directrices particulares apropiadas que publicarán en la Web (como se hizo en 2003 en el caso del síndrome respiratorio agudo severo) para indicar cómo deben prepararse las muestras para el transporte y en qué nivel de Bioseguridad deben analizarse.

8.3. Bacterias

El manejo de microorganismos patógenos constituye un campo de actividades múltiples, que van desde el uso con fines estrictamente experimentales de cepas 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.

A estas variadas actividades se une todo un tráfico de microorganismos patógenos que se envían de un laboratorio a otro, o de un país a otro, con diferentes objetivos. La literatura (ver ref. N^o 14 en pág. 98) registra numerosos casos debidamente comprobados, de accidentes de laboratorio, algunos fatales, en este tipo de trabajo, y sin duda hay, desde hace tiempo, preocupación por las medidas de protección frente a este riesgo, tanto para las personas directamente en contacto con el agente patógeno, como para el ambiente y la comunidad.

Las normas que a continuación se enumeran 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 debe tener toda persona que labora con este tipo de material.

El grado de protección que se debe proporcionar a las personas que trabajan directamente con estos organismos, al ambiente y a la comunidad, se clasifica en 4 niveles que son:

Nivel 1 Nivel mínimo o elemental de Bioseguridad

Este nivel debe ser observado por todos los laboratorios que trabajan con microorganismos que han sido clasificados como sin riesgo o riesgo mínimo (Ver el listado respectivo en el Anexo 3).

Este nivel especifica además, las medidas de orden general aplicables a cualquier laboratorio que manipule microorganismos cualquiera sea el riesgo, por lo tanto, forma un conjunto de medidas básicas indispensables a las que se le van agregando otras de acuerdo a los otros niveles de riesgo y en relación con la manipulación de microorganismos clasificados en niveles de mayor potencialidad de daño.

1. Recomendaciones generales:

- Toda persona que trabaja o ingresa a trabajar en un laboratorio que manipula microorganismos, cualquiera sea su grado de peligrosidad, deberá recibir un fascículo instructivo sobre trabajo en ambiente estéril, manipulación de material estéril, definición de riesgo y contaminación.
- Deberá programarse periódicamente charlas o grupos de discusión sobre BS, trabajo con microorganismos, trabajo en ambiente estéril, patogenicidad y otros temas relacionados con Bioseguridad.

2. Medidas mínimas de Bioseguridad para este nivel:

- El Jefe de Laboratorio debe determinar las restricciones de acceso al laboratorio de personas extrañas, particularmente cuando hay experimentos en curso.
- Las superficies de trabajo deben descontaminarse una vez al día y cada vez que se produzca un derrame de material contaminado.
- Todo material contaminado debe descontaminarse antes de ser eliminado o depositado en aparatos cerrados que serán esterilizados antes de su lavado o eliminación como basura.
- Debe prohibirse el uso bucal de pipetas.
- Debe prohibirse: comer, beber, fumar, maquillarse en las áreas restringidas. No debe guardarse alimentos, bebidas o cualquier otra clase de efectos personales en los refrigeradores o cámaras frías destinadas al uso de material experimental.
- El personal que manipula microorganismos debe usar delantal, con el cual no debe concurrir a otras actividades, debe dejarlo en el laboratorio y cambiarlo por uno de uso en circulación externa a él.
- Deben existir facilidades para lavarse las manos, al término del trabajo experimental.
- Debe evitarse provocar aerosoles con el material contaminado.
- Debe procurarse el aseo general del laboratorio a una hora fuera del horario habitual de trabajo experimental.
- El laboratorio debe estar libre de insectos o roedores.

Nivel 2 Permite la manipulación de Microorganismos de mediana potencialidad de riesgo

Las medidas de Bioseguridad para este nivel comprenden:

- Las mismas especificadas en el Nivel 1, más:

- El personal debe recibir un especial entrenamiento para la manipulación de estos organismos.
- El personal debe ser sometido a inmunización (cuando sea posible) para los agentes que están manipulando.
- Debe tenerse acceso fácil a elementos que permitan rápidamente la descontaminación de la piel u otra región del cuerpo que accidentalmente tome contacto con el material patógeno.
- Ante cualquier accidente debe de inmediato comunicarse al Jefe del Laboratorio.
- Deben usarse campanas de flujo laminar o gabinete de bioseguridad.
- Deben diseñarse medidas de protección, en el uso de procedimientos que generan aerosoles, como centrifugación, agitación, sonicación, molienda, inoculación animal, cosecha de grandes cantidades de material infeccioso.
- Debe mantenerse un aseo diario con descontaminación química de los laboratorios, y procurar una disposición física de fácil acceso para ser aseado.
- Todo material que salga del laboratorio debe hacerse en aparatos especiales, cerrados y sometidos a autoclave.

Nivel 3 Permite la manipulación de microorganismos autóctonos (*indigenous*) o externos (*exotic*), los que pueden provocar enfermedades serias o letales como resultado, especialmente, de la inhalación. Es aplicable en particular a diagnóstico clínico e investigación.

Las medidas de Bioseguridad son las mismas del Nivel 1 y 2, a lo que se agrega:

- El personal debe estar especialmente entrenado.
- El laboratorio debe tener puertas de seguridad, existir medidas de control del acceso, ductos de salida del aire de ventilación, y presión negativa, de manera que el aire entre al laboratorio.
- Deben usarse gabinetes de seguridad biológica de clase 1 ó 2, los cuales al igual que otras superficies de trabajo, deben ser decontaminadas luego del trabajo.
- El material contaminado debe eliminarse en receptáculos cerrados, a prueba de pérdidas de líquidos, y es preferible una autoclave interior para su esterilización previa a la salida del laboratorio.
- La ropa de uso en el laboratorio, guantes, mascarillas, etc., debe ser eliminada o esterilizada en receptáculos cerrados.
- Deben tomarse las medidas de protección en la manipulación de muestras, cultivos o animales que generen aerosoles infectantes.
- El personal debe ser vacunado cuando exista una vacuna disponible.

Nivel 4. *Permite la manipulación de agentes de alto riesgo, y externos, los que implican una seria amenaza de vida.*

Las medidas de Bioseguridad son las mismas de los Niveles 1 al 3; respecto de este último, deben ser llevados al máximo nivel de seguridad.

El ideal será un cuerpo de edificio separado o en su defecto una unidad aislada.

Deben agregarse las siguientes medidas:

- Gabinetes de Bioseguridad de tipo 3.
- Ningún material debe salir del laboratorio sin ser previamente esterilizado, cuyo ideal es la autoclave de doble puerta.
- Sólo debe haber acceso a personal entrenado y de servicio en esa Unidad, el que debe entrar a través de una pieza de vestir, con duchas, además de la ropa de trabajo debe usar guantes, mascarillas y cubrirse adecuadamente la cabeza.
- Los materiales deben ingresar a través de una ventana doble.
- El personal debe ser vacunado cuando exista una vacuna disponible.
- Los agentes patogénicos de interés en Chile, agrupados de acuerdo a su nivel de riesgo, se pueden apreciar en el Anexo 3.
- Consulte, además, el **Anexo 2** sobre diseños de laboratorios de seguridad.

Nivel 5. *Se denomina nivel 5 de Bioseguridad y clase 5 para referirse a microorganismos patógenos o genéticamente modificados que se introducen al país.*

Para ellos, en primer término, debe haber una expresa autorización de él o los organismos del Estado encargados de este tipo de control. Su manejo en el laboratorio debe, de acuerdo a su identificación taxonómica, seguir los niveles recomendados para cada caso. Si se desconoce su identidad u otro detalle de su patogenicidad o genética, debe aplicarse el nivel 4 mientras no se logre conocer su total identificación y características biológicas.

8.4. Bioseguridad en el manejo de plantas infectadas con microorganismos patógenos.

El manejo de los microorganismos patógenos de plantas, no difiere sustancialmente del manejo de microorganismos patógenos para el hombre. Aún cuando en su gran mayoría no afectan al ser humano directamente, pueden causarle problemas pulmonares, a la vista, etc., si no son manipulados en forma adecuada. Por otra parte, la gran mayoría de los microorganismos patógenos de plantas pueden causar problemas al hombre y a animales de pastoreo, que puedan ingerir tejidos vegetales infectados, en los cuales se encuentran presentes toxinas excretadas por estos microorganismos (hongos y

bacterias). Los agentes patógenos de interés especialmente en Chile, se pueden apreciar en el Anexo 4.

Sin embargo, en la manipulación de microorganismos patógenos de plantas, debe considerarse que su diseminación puede causar graves problemas a la agricultura, y por lo tanto, deben controlarse además de la manipulación, el traslado de microorganismos de un lugar a otro, junto con el traslado de plantas que puedan estar infectadas. A nivel de laboratorio, el material biológico (microorganismos y plantas infectadas) no deberá ser retirado sin previa autorización del Jefe de Laboratorio, y en ningún caso debe permitirse el traslado de plantas infectadas o no infectadas con patógenos a casas particulares.

Se recomiendan las siguientes medidas para el trabajo seguro con microorganismos patógenos de plantas (bacterias, hongos, virus, viroides, fitoplasmas, etc.):

1. Para evitar la propagación no-intencional del patógeno, se recomienda separar físicamente los lugares de crecimiento del material vegetal infectado de los lugares de crecimiento del material vegetal "sano".
2. Se prefiere una estructura permanente (cámara de crecimiento dentro de un edificio, o invernadero), pero una estructura temporal bien mantenida también es adecuada (ej. túneles invernaderos).
3. El recinto de propagación de las plantas infectadas debe resistir las condiciones climáticas locales para evitar la fuga de material vegetal.
4. Los recintos utilizados para el crecimiento de las plantas deben tener puertas que se sellan bien y que se puedan cerrar con llave, restringiendo tanto el flujo de vectores, como la entrada de personas. Se recomienda la instalación de dos puertas entre el recinto donde se cultiva las plantas infectadas y el medio ambiente y se debe capacitar al personal para no dejar ambas puertas abiertas al mismo tiempo.
5. Es posible que no todos los recintos para el cultivo de plantas contengan plantas infectadas. Por lo tanto, se debe poner letreros indicando cuáles son los lugares que poseen plantas infectadas, indicando el nombre del investigador responsable.
6. Las superficies donde crece el material vegetal debe ser de fácil limpieza y resistentes a cloro u otros desinfectantes.
7. El piso debe ser permanente, sólido y de fácil lavado.
8. Se debe 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).
9. En el caso de invernaderos para el crecimiento de plantas infectadas, se requiere la eliminación de plantas de la vecindad inmediata del invernadero mediante el uso de herbicidas y/o pavimentación.
10. Se debe evitar el contacto directo de las plantas infectadas con el suelo, paredes y repisas, manteniéndolas en maceteros u otros recipientes. Los maceteros u otros recipientes no se deben disponer directamente en el piso, si no que en repisas, estantes, bandejas, etc.

11. Se recomienda que el agua contaminada (por ejemplo por exceso de riego) no entre al desagüe común.
12. El recinto utilizado para el crecimiento y manipulación de plantas infectadas debe tener instalaciones para el lavado y desinfección del material y personal de trabajo (lavadero). Del mismo modo, se requiere de mecanismos de esterilización de los materiales y desechos contaminados antes de botarlos. En el caso de una autoclave, éste debe estar en el mismo edificio que el lugar en que se cultivan las plantas, aunque se permite el traslado de material infectado a otro edificio si este traslado se realiza en un recipiente adecuadamente cerrado (caja, bolsa, etc.). La incineración es otra alternativa que está permitida.
13. Se requiere el uso de delantales y guantes, especialmente al trabajar con patógenos transmisibles mecánicamente.
14. En el laboratorio, patógenos en cultivo y plantas infectadas deben mantenerse guardados en frascos sellados bien rotulados.
15. Se debe capacitar al personal que usará las instalaciones para que tome las medidas adecuadas para prevenir la diseminación de patógenos al medio ambiente.

8.5. Bioseguridad en el manejo de los virus

Todos los virus capaces de infectar al hombre deben ser manipulados a un nivel 2 o mayor de seguridad. Los virus de otras especies animales deben 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 Encefalitis Equina del Este, los Hantavirus, o el Ebola. De particular consideración al respecto son los Arbovirus, virus transmitidos por artrópodos (del inglés arthropod-borne viruses), algunos de los cuales son capaces de causar enfermedades severas en el hombre. Tanto para los virus de especies animales como para los virus de plantas se debe considerar su potencial impacto en el medio ambiente chileno y por lo tanto, observar todas las normas para su manipulación y contención. Estrictas normas al respecto han sido dictadas por las Instituciones controladoras de las actividades agrícolas, ganaderas y forestales. De particular importancia dentro de este grupo es el virus de la fiebre aftosa.

Mientras se elabora un catálogo chileno con la clasificación de riesgo para los virus que incluya todos los agentes virales conocidos y se define el nivel de seguridad para su manipulación, se propone observar la clasificación señalada en el "Catalogue of animal viruses & antisera, chlamidae & rickettsiae" de la American Type Culture Collection (American Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852-1776). En este catálogo se señala si un virus requiere permiso del Servicio de Salud Pública, por su potencial peligro para la salud humana, del Departamento de Agricultura, por su potencial peligro para las actividades agrícolas y ganaderas, y además se destacan los virus clase III que deben ser manipulados con niveles de seguridad 3 ó 4.

Virus del grupo de Bioseguridad nivel 2. (Los virus transmitidos por artrópodos se identifican con un asterisco).

Sólo los virus que se pueden asociar con enfermedad animal o humana se han incluido en esta lista. Los agentes relacionados en este grupo pueden estar presentes en sangre, líquido céfalo-raquídeo (LCR), sistema nervioso central y otros tejidos, y en artrópodos infectados (indicados con un asterisco), dependiendo del agente y del estadio de la infección.

Adenoviridae

Adenoviruses, todos los serotipos.

Arenaviridae

Virus de la coriomeningitis linfocitaria (cepas adaptadas al laboratorio)

Complejo virus Tacaribe: Tamiami, Tacaribe, Pichinde.

Bunyaviridae*

Género Bunyavirus, Bunyamwera y virus relacionados.

Grupo de la Encefalitis de California, incluyendo LaCrosse, Lumbo y fiebre de raqueta.

Género Phlebovirus.

Todas las especies excepto el virus de la fiebre del Valle del Rift.

Caliciviridae - todos los aislamientos (incluyendo Hepatitis E y Norwalk)

Coronaviridae

Coronavirus humano, todas las cepas.

Virus de la gastroenteritis transmisible de los cerdos.

Virus de la encefalomielitis hemaglutinante de los cerdos.

Virus de la hepatitis murina.

Coronavirus Bovino

Virus de la peritonitis infecciosa felina.

Virus de la bronquitis infecciosa aviar

Coronavirus canino, de la rata y del conejo

Flaviviridae*

Virus de la fiebre amarilla (cepa vacuna 17D).

Virus del dengue (serotipos 1,2,3,4).

Virus Kunjin.

Virus de la Hepatitis C (manejo de muestras clínicas).

Hepadnaviridae

Virus de la hepatitis B, incluye agente Delta.

Herpesviridae

Alfaferpesvinae:

Género Simplexvirus: todos los aislamientos, HHV 1 y HHV 2, excepto

Herpes B virus (grupo de riesgo biológico nivel 4).

Género Varicellovirus: todos los aislamientos, incluyendo virus

varicella/zoster.

(HHV 3) y virus de la pseudorrabia

Betaherpesvirinae

Género Cytomegalovirus: todos los aislamientos, incluyendo CMV (HHV 5).

Género Muromegalovirus: todos los aislamientos.

Gammaherpesvirinae

Género Lymphocryptovirus: Epstein Barr Virus (HHV 4) y aislamientos de EB-like.

Género Rhadinovirus: todos los aislados (excepto H. ateles y H. saimiri, ver Grupo de riesgo biológico de nivel 3).

Género Thetalymplocryptovirus: todos los aislamientos.

Herpesvirus innominados: incluye HHV 6 (human á- lymphotropic virus), HHV 7, HHV 8, etc.

Orthomyxoviridae

Género Influenzavirus:

Influenza virus tipo A, todos los aislamientos.

Influenza virus tipo B, todos los aislamientos.

Influenza virus tipo C, todos los aislamientos.

Papovaviridae

Género Papillomavirus: todos los aislamientos.

Género Polyomavirus: todos los aislamientos.

Paramyxoviridae

Género Paramyxovirus: todos los aislamientos.

Género Pneumovirus: todos los aislamientos.

Parvoviridae

Género Parvovirus: todos los aislamientos.

Picornaviridae

Género Aphthovirus.

Género Cardiovirus - todos los aislamientos.

Género Enterovirus - todos los aislamientos.

Género Hepatovirus - todos los aislamientos (Hepatitis A).

Género Rhinovirus - todos los aislamientos.

Poxviridae

Chordopoxvirinae (poxvirus de vertebrados).

Género Capripoxvirus.

Género Molluscipoxvirus.

Género Yatapoxvirus.

Género Avipoxvirus - todos los aislamientos.

Género Leporipoxvirus - todos los aislamientos.

Género Orthopoxvirinae - todos los aislamientos (excepto Viruela y Viruela de los monos ver en Nivel 4).

Género Parapoxvirus: todos los aislamientos.

Género Suipoxvirus: Swinepox.

Todos los otros Poxvirus de vertebrados no agrupados.

Reoviridae

Género Orbivirus - todos los aislamientos.

Género Orthoreovirus, tipos 1, 2 y 3.

Género Rotavirus - todos los aislamientos.

Retroviridae

Género Oncornavirus C

Subgénero Oncornavirus C aviar - todos los aislamientos.

Subgénero Oncornavirus C de mamíferos - todos los aislamientos excepto HTLV-I, HTLV-II.

Género Oncornavirus B - todos los aislamientos.

Lentivirinae - todos los aislamientos excepto HIV-I, HIV-II.

Spumavirinae - todos los aislamientos.

Rhabdoviridae

Género Vesiculovirus (Todas las cepas adaptadas al laboratorio).

Género Lyssavirus: Virus de la rabia (Virus fijado).

Togaviridae

Género Alphavirus*.

Virus del bosque de Semliki Sindbis.

O'Nyong-Nyong.

Virus del río Ross.

Encefalitis equina de Venezuela (Sólo cepa TC-83).

Género Rubivirus.

Virus de la Rubéola.

Género Pestivirus.

Virus de la diarrea bovina.

Virus de la enfermedad de la frontera.

Género Arterivirus.

Virus de la arteritis equina.

Virus no clasificados

Toroviridae.

Otros virus de hepatitis.

Virus de la enfermedad de Borna.

Astrovirus.

Agentes de la infección neuropática crónica (CHINAs).

Virus del grupo de Bioseguridad nivel 3. (Los virus transmitidos por artrópodos se identifican con un asterisco).

Arenaviridae;

Virus de la coriomeningitis linfocitaria, cepas neurotrópicas.

Bunyaviridae;

Bunyavirus no clasificados.

Virus Hantaan, Virus de la fiebre hemorrágica y nefrosis epidémica de Corea, incluyendo el virus responsable del síndrome pulmonar por Hantavirus (virus sin nombre SNV; virus Andes, ANDV).

Virus de la fiebre del Valle del Rift.

Flaviviridae*:

- Virus de la fiebre amarilla (tipo salvaje).
- Virus de la encefalitis de San Luis.
- Virus de la encefalitis japonesa.
- Virus de la encefalitis del valle de murria.
- Powassan.
- HCV (cultivo experimental ex vivo).

Herpesviridae:

- Herpesvirus ateles.
- Herpesvirus saimiri.

Retroviridae,

- Virus de la leucemia/linfoma de células T humanas (ver nota al pie).
- Virus del mono Mason-Pfizer.
- Virus de la inmunodeficiencia simia (SIV) (Virus de primates no humanos), Virus del tumor mamario murino (MMTV).
- Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV - todos los aislamientos) (ver nota al pie).

Rhabdoviridae,

- Género Vesiculovirus (wild type strains).
- Género Lyssavirus.
- Virus de la rabia (virus de la calle).

Togaviridae

- Género Alphavirus*.
- Virus de la encefalitis equina oriental.
- Chikungunya.
- Virus de la encefalitis equina de Venezuela (excepto cepa TC-83).
- Virus de la encefalitis equina occidental.

Virus sin clasificar (el nivel de las precauciones depende de la naturaleza de las manipulaciones y de la cantidad de sueros o de materiales de bio/necropsia que se manejen).

- Agentes de las neuropatías infecciosas crónicas (CHINAs), Kuru.
- Agente del Creutzfeldt-Jakob

NOTA: Los laboratorios que se dediquen primariamente al aislamiento e identificación de HTLV, HIV, HCV, pueden realizar estas actividades en laboratorios de nivel 2 de contención (requerimientos físicos) usando requerimientos operativos de nivel 3. Sin embargo, todas las actividades de investigación y producción necesitan la aplicación de requerimientos operacionales y físicos de contención de nivel 3 ya que la cantidad de agente viral infeccioso que se maneja es alta.

Virus del grupo de Bioseguridad nivel 4 (Los virus transmitidos por artrópodos están marcados con un asterisco).

Arenaviridae:

Virus Lassa.
Junin.
Machupo.
Sabia.
Guanarito.

Bunyaviridae*:

Género Nairovirus, Fiebre hemorrágica de Congo-Crimea.

Filoviridae:

Virus Marburg.
Virus Ebola.

Flaviviridae*:

Complejo de las encefalitis transmitidas por garrapatas, incluyendo la encefalitis de primavera-verano de Rusia; Virus del bosque de Kyasanur; Virus de la fiebre hemorrágica de Omsk.

Herpesviridae:

Alphaherpesvirinae,
Género Simplexvirus
Virus Herpes B (virus de los monos).

Poxviridae

Género Orthopoxvirinae
Viruela, Monkeypox.

8.6. Bioseguridad en el manejo de vectores virales y virus quiméricos

Una partícula viral recombinante se define como un virus genéticamente modificado, que porta uno o más genes de origen no viral que sirve de vehículo para el transporte de estos genes a un blanco biológico (célula). Los vectores virales aprovechan las estrategias desarrolladas evolutivamente por los virus para poder infectar células para introducir información génica en una célula blanco. Se caracterizan por permitir una alta eficiencia de la transferencia de genes, en comparación con estrategias alternativas como son los vectores no virales (moléculas coadyuvantes que facilitan el ingreso de ácidos nucleicos a las células). Los virus utilizados con mayor frecuencia en protocolos de transferencia genética son: los retrovirus, los adenovirus, los virus asociados a adenovirus y los virus de herpes simplex. Idealmente el diseño del vector viral asegura que éste sólo sirve para el transporte de material génico exógeno siendo incapaz de dar origen a nuevas partículas virales replicativas en las células transducidas. En consecuencia, se entiende que un vector viral no puede producir ningún escape ni

reversión en formas virulentas. Por ello, los vectores virales básicos (no incluyen genes exógenos, y carecen de genes virales que permitan su replicación) se clasifican dentro del grupo de riesgo biológico de nivel 2 y deben ser manejados en un laboratorio de Bioseguridad de nivel 2 (BS-2) y en un gabinete de seguridad de nivel 2. Sin embargo, el riesgo biológico real de un vector viral (vehículo) puede variar a un nivel de Bioseguridad mayor. El nivel de riesgo biológico real de estos vectores está determinado por el riesgo biológico, para el operador y el ambiente, de él o los genes exógenos que éste porta así como por el tropismo de la partícula viral recombinante. El tropismo viral se refiere a la capacidad de una partícula viral de interactuar con una célula blanco de manera específica. Existe una gran gama vectores virales con diferente tropismo que varía entre aquellos de amplio tropismo (capaces de infectar un gran número de tipos celulares diferentes y no se encuentran restringidos a una sola especie) a aquellos que presentan un tropismo extremadamente selectivo (capaces de infectar un solo tipo celular de una especie en particular). En consecuencia, para determinar el nivel de Bioseguridad real de un vector viral se debe considerar el tropismo de éste y adicionar la evaluación del riesgo potencial que representa él o los genes exógenos introducidos en vector.

Los virus recombinantes que contienen una mezcla de genes de dos o más virus diferentes merecen una consideración especial. Dentro de esta categoría se incluye a los virus de genoma completo y los replicones de genoma trunco. Sin embargo, la clasificación en los grupos de riesgo respectivo debe hacerse considerando la habilidad de estos virus quiméricos de replicar en cultivo celular y en modelos animales, sus patrones de virulencia o atenuación con respecto a las cepas parentales, y capacidad de reversión hacia especies de alta virulencia y patogenicidad con respecto a las cepas parentales. Dependiendo de los parámetros anteriores los virus quiméricos deben ser manejados en un laboratorio de Bioseguridad de nivel 2 (BS-2) o 2 y en un gabinete de seguridad de nivel 2.

9. Bioseguridad en el manejo de animales de experimentación

Los animales de experimentación se definen como todos aquellos metazoarios (animales multicelulares) que serán albergados en recintos de investigación, temporal o permanentemente y abarca especies tanto de crianza específica para fines de investigación como aquellas obtenidas desde el ambiente natural. Existen normas específicas para distintos tipos de animales y en relación a Bioseguridad, se distinguen respecto a su posible riesgo para la salud humana, para la agricultura y para el medio ambiente.

El uso de animales de experimentación, obliga a las instituciones donde se usan estos recursos a facilitar el establecimiento de prácticas que permitan garantizar razonablemente los niveles de seguridad, calidad y cuidado, así como el bienestar físico y psicológico de los animales cuando se trata de organismos vertebrados (peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos). Del mismo modo, el laboratorio que alberga a los animales de experimentación deberá poseer una infraestructura y ubicación apropiada en el sistema de laboratorios.

Los niveles de seguridad requeridos expresados por las facilidades necesarias en las prácticas y operaciones deberán ser comparables, tanto si se trata de agentes infecciosos *in vivo* como *in vitro*.

Idealmente, el laboratorio que utiliza animales de experimentación destinados a estudios de enfermedades infecciosas o no, deberá estar físicamente separado de los que realicen otro tipo de actividades, tales como producción de animales, cuarentena, o uso de ellos sin material infeccioso.

Estos laboratorios se construirán con “áreas limpias” y “áreas sucias” para reducir el peligro de contaminación cruzada y facilitar su limpieza.

Se ha descrito un sistema de cuatro niveles para la realización de las prácticas de seguridad en los equipos y facilidad para experimentar con animales y agentes sobre los cuales se conoce o no, que puedan producir infecciones en el hombre.

Estos cuatro niveles de seguridad para el manejo de animales de laboratorio, proveen las recomendaciones mínimas para el desenvolvimiento de los trabajos.

9.1. Niveles de Bioseguridad para el trabajo con animales de experimentación

Esta sección se refiere principalmente al trabajo con mamíferos, ya que representan la principal fuente de riesgo biológico para el investigador y la comunidad. Sin embargo, otras especies pueden presentar riesgos similares (como aves) por lo que medidas de contención y resguardo deben implementarse de una manera similar a la aquí descrita.

Nivel 1

1. Recomendaciones Generales:

- Las puertas de acceso a la pieza de los animales, que se abrirán hacia adentro, tendrán cada una un sistema de cierre automático y deberán permanecer cerradas cuando los animales de experimentación estén en ellas.
- La superficie de trabajo deberá descontaminarse antes y después de utilizar material viable.
- No estará permitido comer, beber, fumar o guardar comida para uso humano, en las salas de animales en experimentación.
- El personal deberá lavarse las manos después de trabajar con los cultivos y los animales y antes de abandonar la sala de inoculaciones.
- Todos los pasos deberán realizarse cuidadosamente con el fin de minimizar la producción de aerosoles.

2. Prácticas Especiales:

- Retirar la cama de las cajas con el máximo cuidado para evitar la formación de aerosoles.
- Las cajas serán lavadas manualmente o con máquina. La temperatura final del agua de enjuague deberá ser de 82,2 °C.
- La ropa de trabajo tal como guardapolvos, batas o gorros, se deberá guardar en una pieza especial. El personal se vestirá con las mismas antes de entrar en las salas de inoculaciones. Es recomendable utilizar estas ropas dentro del área de trabajo y no en otras.

3. Contenedores Especiales. No se requieren equipos de contenedores especiales, cuando se usan animales de un nivel de BS-1.

4. Instalaciones para los animales:

- El animal estará en una jaula, diseñada y construida para favorecer su limpieza y alojamiento.
- Se deberá poseer lavatorios para el lavado de manos.
- Cuando sea necesario que las ventanas de las salas permanezcan abiertas, éstas deberán estar resguardadas con una tela metálica.
- Es recomendable que la dirección del flujo de aire sea interna, y que el proceso para eliminar el aire se realice sin que haya recirculación dentro de las habitaciones.

Nivel 2

1. Recomendaciones Generales. Deben incorporarse los puntos que se recomiendan en el Nivel 1.
2. Prácticas Especiales:
 - Las cajas serán descontaminadas especialmente por autoclave antes de su limpieza o lavado.
 - Se deberá proveer de máscaras de cirugía a todo el personal.
 - Deberá utilizarse dentro de las salas de inoculaciones el vestuario protector, y se deberá retirar únicamente después de haberse completado las tareas.
 - El responsable del área limitará el acceso a las personas señalando el peligro potencial. En general, aquel personal con mayor riesgo potencial de adquirir una infección, no será autorizado a penetrar en las salas de inoculación.
 - El responsable del área dispondrá de un sistema de vigilancia, y el personal estará advertido del peligro potencial y, obviamente, inmunizado.
 - Cuando el agente infeccioso por utilizarse requiere condiciones especiales, por ejemplo vacunaciones, se deberá colocar un signo de peligro especial junto con el símbolo universal de Bioseguridad en la puerta de entrada.
 - Se deberá indicar el agente infeccioso, lista de nombres y teléfonos del personal responsable y los requerimientos especiales para entrar en el área.
 - Se deberá tener especial cuidado para evitar la contaminación de la piel con el agente infeccioso, se deberán usar guantes cuando el contacto sea inevitable.
 - Todos los desperdicios de la sala serán apropiadamente descontaminados preferiblemente mediante autoclave, antes de descartarse. Las carcacas de los animales infectados serán incineradas y transportadas las cajas convenientemente cerradas.
 - Se utilizarán unidades de agujas y jeringas desechables, para la inyección o aspiración de fluidos infecciosos. Una vez utilizadas, se descontaminarán por autoclave, antes de eliminarlas.
 - La limpieza de los pisos de la sala deberá realizarse con un trapo embebido en la solución desinfectante apropiada.
 - Las muestras de suero consideradas como de riesgo para el personal, serán apropiadamente recolectadas y convenientemente guardadas.
 - Si es necesario disponer de muestras adicionales, la extracción se realizará en forma periódica, de acuerdo a las facilidades de trabajo.
 - La o las salas para el manejo de animales de este nivel, deben estar dotadas de los equipos que permitan cumplir adecuadamente lo dispuesto en cada uno de los puntos descritos.
3. Contenedores Especiales. Se utilizarán cabinas de seguridad biológica o bien equipos especiales de protección, anteojos y otros, como máscaras, etc., cuando el peligro potencial de formación de aerosoles se haga real. Esto incluye necropsia

de los animales infectados, recolección de tejidos, fluidos, huevos infectados, inoculación intranasal de los animales y manipulación de grandes volúmenes de material infeccioso.

4. Instalaciones para los animales. Se considerará lo ya recomendado en los 4 puntos del Nivel 1, y además para descontaminar el material infeccioso, se debe instalar una autoclave en el edificio donde se encuentran los animales inoculados.

Nivel 3

1. Recomendaciones Generales. Deben incorporarse los puntos que se recomiendan en el Nivel 1.
2. Prácticas Especiales. Se aplicará lo indicado en los puntos del Nivel 2 a los cuales se agrega lo siguiente:
 - Si existen líneas de vacío se deberá proteger con filtros HEPA y una trampa con solución desinfectante.
 - El personal estará provisto de botas, protectores de calzado y deberá utilizar baños y desinfectantes para los pies.
3. Contenedores Especiales:
 - El personal se protegerá con ropas y/o equipos para todos los procedimientos con los animales infectados y con material infeccioso,
 - El riesgo de los aerosoles provenientes de los animales infectados o de las camas, se evitará colocando los animales en cajas especiales con un sistema de compartimentos de contención parcial, las que se colocarán en gabinetes o campanas de flujo laminar, a su vez el fondo de la caja debe tener un sistema de filtros absorbentes u otro dispositivo similar.
4. Instalaciones para los animales:
 - Las cajas para los animales serán construidas en material que facilite su limpieza y cuidado.
 - Deberán estar ubicadas en áreas separadas y tendrán acceso restringido al tránsito del personal dentro del edificio.
 - El pasaje a través de dos habitaciones contiguas, se realizará por puertas y corredores de acceso.
 - La separación física será provista por puertas dobles.
 - En el interior las superficies de paredes, techos y pisos deberán ser resistentes al agua y fácilmente lavables. Estas superficies deberán ser

convenientemente selladas para facilitar una fumigación o recontaminación del espacio.

- Se deberá proveer de lavatorios para el lavado de las manos accionados con los pies o una palanca. Estará ubicado en la sala y cerca de la puerta de salida.
- Las ventanas serán cerradas y selladas.
- Las puertas tendrán cierre propio y permanecerán cerradas, mientras los animales estén presentes.
- Deberá ubicarse una autoclave, los materiales serán esterilizados dentro del laboratorio y transportados en cajas cerradas hacia el exterior.
- Deberá proveerse de un eficiente sistema de ventilación.
- No deberá haber recirculación de aire dentro del edificio.
- El personal deberá verificar la dirección del flujo de aire dentro del laboratorio.
- El aire filtrado hacia el exterior proveniente de cabinas de seguridad biológica tipos I y II, deberá serlo a través de filtros HEPA.

Nivel 4

1. Recomendaciones Generales. Deberán incorporarse los puntos que se recomiendan en el Nivel 1 y además las cajas para los animales deberán esterilizarse por autoclave antes de proceder a su limpieza.
2. Prácticas Especiales. Se utilizarán los criterios de los puntos del Nivel 3 a los cuales se agregan los siguientes:
 - Están autorizadas a penetrar en el área de trabajo solamente las personas que lo realicen, o bien aquellas que designe el responsable de las actividades. Las personas que entren en estas áreas deberán conocer las instrucciones y los procedimientos para la entrada y salida.
 - Determinados grupos humanos como niños, embarazadas, inmunodeficientes e inmunodeprimidos podrán aumentar su riesgo, o adquirir la infección, por lo cual la entrada deberá estar absolutamente restringida.
 - Deberá establecerse un protocolo para las situaciones de emergencia.
3. Contenedores Especiales. Los animales de laboratorio de este nivel de seguridad serán alojados dentro de cabinas de seguridad biológica, clase 3, en cajas con tapas y en ambientes con presión positiva.
4. Instalaciones para los animales:
 - Las salas donde se alojarán los animales estarán ubicadas en edificio separado o en una zona claramente delimitada dentro del edificio.
 - Estarán provistas de puerta doble, autoclave y cámara de fumigación.

- Las paredes, pisos y techos, estarán contruidos de modo tal que se pueda realizar un sellado interno, que facilite la fumigación para eliminación de los insectos. Las superficies internas serán resistentes a los líquidos y agentes químicos, utilizados en la descontaminación del área. Toda filtración a través de las estructuras deberá ser evitada mediante sellado.
- Se minimizarán las superficies tales como soportes para luces, conductos de aire, etc., para evitar zonas sucias, que exijan un proceso de descontaminación. Se proveerá de un lavador automático de manos, el que estará ubicado cercano a la puerta de salida.
- Si existe un sistema de vacío, el mismo deberá estar provisto de filtros HEPA, para permitir una descontaminación del área. Otros líquidos o servicio de gas deberán estar suficientemente protegidos para evitar la producción de reflujo.
- Las puertas externas por las que penetrarán los animales deberán tener cierre de seguridad propio.
- Las ventanas serán de material resistente a las roturas y deberán estar selladas.
- Se deberá proveer de una autoclave de doble puerta. La puerta que se abra hacia el área externa, se abrirá únicamente cuando el ciclo de esterilización haya sido completado.
- Deberán existir cámaras de fumigación o equipos de descontaminación equivalentes para el material que no se puede colocar en la autoclave.
- Los efluentes líquidos de las piletas, cabinas y pisos, etc., serán decontaminados por calentamiento antes de ser descartados. Esto se realizará con sistemas mecánicos o bien biológicos, usando un registro termométrico y microorganismos indicadores con susceptibilidad a los patrones de temperatura. Los líquidos de lavado de las estructuras serán decontaminadas con desinfectantes químicos, de probada eficacia.
- Se utilizarán sistemas de ventilación individuales, estarán provistos de manómetros que medirán los diferentes niveles de presión, el equipo tendrá alarma sonora para señalar el mal funcionamiento del sistema.
- El aire que recircula en las salas donde están alojados los animales, deberá filtrarse a través de filtros HEPA. El aire que se descarta hacia el exterior, deberá hacerlo a través de filtros HEPA, los que estarán ubicados cerca de los laboratorios para reducir el peligro potencial de largos conductos de aire.
- El aire que se descarte de las cabinas de seguridad de Clase I y II será controlado y certificado cada seis meses.
- Las áreas de trabajo tendrán presión positiva, descontaminantes químicos para usar en las superficies, un sistema de luz de emergencia, y un sistema de autoclave de puerta doble para permitir la descontaminación de las ropas y materiales del área.

Cuando se trabaja en experimentos con animales de laboratorio existen dos fuentes de peligro:

- Enfermedades que se transmiten al hombre y que fueron natural o experimentalmente adquiridas.
- El material infeccioso utilizado en el desarrollo de la experiencia.

En el primer caso, la colonia de animales excreta el agente infeccioso por heces, orina, saliva, aire expirado y la transmisión es posible cuando se sostiene el animal, en las inhalaciones, en la limpieza de las cajas, en el contacto con la sangre y tejidos durante la necropsia.

Existe, además, una categoría de animales que padecen una infección subclínica, son potencialmente infecciosos y a medida que progresa la enfermedad, la misma se expresa con la sintomatología clínica y deberán, por lo tanto, ser descartados.

Determinadas enfermedades como Brucelosis, Cólera, Histoplasmosis, Hepatitis, Leptospirosis, Poliomielitis y Tuberculosis, son transmitidas al hombre a través de las heces y la orina.

Por ello, deberán seguirse las siguientes prácticas higiénicas y de control en el manejo de los mismos:

- Cuando se produzcan heridas:
 - Se deberá lavar con abundante agua y jabón.
 - Se recibirá inmediata asistencia médica, y se aplicará sobre la zona de la lesión, una solución de antiséptico.
 - El animal que ha producido la lesión, deberá ser identificado, anestesiado y examinado.
 - La asistencia médica tendrá en observación al paciente por un periodo no menor de tres semanas.
 - Se deberá notificar al CIB.
- Los bioterios deben tener un sistema separado especial de cuarentena y observación, especialmente con los animales que por alguna razón son remitidos desde el exterior.
- Un especial cuidado se tendrá en estos casos frente al riesgo potencial de Rabia, en el manejo de perros y gatos.

Por todo lo expresado, se podrá concluir que todo procedimiento de laboratorio microbiológico, desde la llegada de la muestra hasta su procesamiento, constituye un peligro para el operador.

La sustitución por técnicas más seguras o el conocimiento de los peligros potenciales, hará que los mismos se puedan evitar o bien minimizar, para que la seguridad en la utilización de reactivos biológicos sea una realidad diaria.

Respecto a los microorganismos o tipo de muestras que se someterán a experimentos con animales, en los Anexos 3 y 4 se indican las medidas de Bioseguridad para el manejo de las muestras como de los animales infectados de acuerdo a su nivel de riesgo.

9.2. Uso de animales modificados genéticamente

Hoy día es posible realizar modificaciones a nivel genético de prácticamente cualquier especie animal. La transgénesis es una práctica común en muchos centros de investigación dada la posibilidad de utilizar diversos tipos de vectores para transferir material genético (ADN) al genoma de los eucariontes. La transgénesis *per se*, no representa necesariamente un riesgo adicional para el manipulador de los animales salvo que el transgen contenga genes de organismos patógenos o toxinas (péptidos neurotóxicos, venenos de serpiente o de insectos, etc.). Por lo tanto, el principal riesgo en el uso de estos animales es su escape involuntario al medio ambiente donde el transgen pudiera tener la oportunidad de transferirse a otras especies o a individuos de la misma especie que habitan en el ambiente natural. En este sentido, las principales medidas de Bioseguridad se refieren a la contención de los animales y al manejo de los residuos (ver sección siguiente). Obviamente se espera que estas mismas medidas impidan el acceso a los animalarios a animales externos al laboratorio (roedores, insectos, etc.).

Para los efectos de estas recomendaciones, entenderemos por organismo genéticamente modificado, aquel que posee en su genoma secuencias de ADN provenientes de una manipulación experimental, y cuya transferencia se origine ya sea de manera vectorial (plásmidos, virus naturales o manipulados por ADN recombinante, transposones) o indirectamente por generación de un organismo a partir de células o núcleos celulares modificados *in vitro* (clonación o generación de organismos quiméricos). En este contexto, embriones de ratón infectados con un vector retroviral en algunas de sus células, se consideran genéticamente modificados para los efectos de este manual.

La generación de un animal transgénico en un laboratorio o su importación desde otro centro de investigación o de distribución debe ser precedida por la entrega de la información respectiva al CIB de la institución donde trabaja el investigador. Se debe proveer información acerca de la especie animal en cuestión, del método de transferencia génica usado y del material genético introducido (mapas de vectores, secuencias, sitios de integración en el genoma, nivel y sitio de expresión, secuencias codificantes, procedimiento para determinar la presencia del transgen en el organismo como PCR, etc.), lugar de almacenamiento, investigador responsable y personal autorizado para su uso y manipulación.

Los recintos donde se almacenen animales genéticamente modificados deben tener un nivel de seguridad adecuado para limitar el acceso solamente al personal que los manipula y la nómina de este personal debe estar en poder del CIB. Debe explícitamente prohibirse acceso al recinto a personas ajenas a las labores de mantención o experimentación con los animales y es aconsejable rotular el acceso principal con el nombre de la especie almacenada y con el símbolo de riesgo biológico. (Si esta rotulación aumenta el peligro potencial de ingreso de personas no autorizadas puede prescindirse de él, por ejemplo en los lugares amenazados por activistas). También debe indicarse el nombre del investigador responsable y teléfonos de contacto para casos de emergencia. El personal debe cumplir con las normas indicadas arriba respecto a vestimenta y prácticas de manipulación según sea el tipo de animal.

Nos referiremos en específico a los diferentes animales de experimentación que pueden ser modificados genéticamente. Cada tipo de especie puede estar sujeto a normas específicas del Estado para su internación, uso y mantención y por lo tanto deben respetarse estas indicaciones y obtenerse los permisos respectivos de las autoridades (Servicio de Salud, Servicio Agrícola y Ganadero, Servicio Nacional de Pesca, etc.). No cubriremos en esta sección los procedimientos especiales requeridos para aquellos animales transgénicos que además sean usados para experimentación con agentes infecciosos. Para ello debe referirse a lo expuesto en el capítulo 8.

Mamíferos. Las recomendaciones detalladas en la sección anterior aplican para el uso de ratones y ratas genéticamente modificadas y debe observarse un manejo al menos de nivel 3, en lo posible nivel 4, aún cuando los animales no sean portadores de agentes infecciosos. Esto se debe a que estos animales normalmente son criados en condiciones Specific Pathogen Free (SPF) por lo que deben permanecer durante toda su vida en condiciones estériles hasta el momento de su uso experimental o su desecho. En el vivero deben existir sistemas de contención física adecuadas para imposibilitar el escape de los animales: jaulas con sello de seguridad, doble puerta en el vivero, solapas en la parte inferior de las puertas que impidan el paso de los animales, trampas, etc. El edificio que alberga el vivero debe idealmente estar incomunicado de otras instalaciones para dificultar el tránsito y escape de los animales.

Para otros mamíferos genéticamente modificados, la implementación de viveros y protocolos de uso deben seguir criterios similares. Aquellos animales que, por su tamaño o requerimientos, deban mantenerse al aire libre, deben ser manejados de acuerdo a la

normativa ambiental y agrícola vigente para evitar su contacto con especies silvestres (CONAMA, SAG).

Aves y reptiles. Las aves y reptiles modificados genéticamente deben mantenerse en espacios habilitados que provean resguardos de contención similares a aquellos usados para mamíferos pequeños. En lo posible, debe limitarse la posibilidad de vuelo de las aves, condición que ofrece mayores oportunidades de escape.

Anfibios y peces. Estos animales serán 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), deben mantenerse en recintos que posean barreras físicas especiales que impidan su escape al medio ambiente. Dado que son organismos acuáticos, debe velarse porque ellos no escapen por desagües; para ello, las tuberías de desagüe deben contener medidas especiales de retención de los animales, incluyendo embriones y larvas. Para ello se deben implementar barreras e idealmente, un sistema de esterilización de las aguas servidas por iluminación UV. Los peces transgénicos en particular están sujetos a normativas del SERNAPESCA, organismo que debe emitir los certificados de importación y uso correspondientes.

Insectos y otros invertebrados. Nuevamente debe procurarse la contención física de todo material biológico modificado genéticamente, 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 consideraciones 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. 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.

9.3. Manejo de los desechos

Los desechos producidos a partir del trabajo con animales naïve o genéticamente modificados no deben ser eliminados directamente hacia el medio ambiente. Por desechos entendemos carcasas, tejidos, células, fluidos corporales y residuos tanto sólidos como líquidos. Luego de la eutanasia o procedimiento, el material biológico debe ser esterilizado, preferentemente por medio de autoclave o almacenado en congelador para su posterior procesamiento. Todo este material debe ser llevado a incineración y no

debe ser eliminado por ningún otro mecanismo. El traslado del material de desecho al lugar de recepción para la incineración, debe realizarse en bolsas plásticas firmes y rotuladas con el símbolo de riesgo biológico internacional (Fig. 2, pág. 11).

10. Bioseguridad en el manejo de plantas de experimentación

El uso de plantas de experimentación, obliga a las instituciones donde se usan estos recursos a facilitar el establecimiento de prácticas y de infraestructura que permitan garantizar razonablemente los niveles de seguridad, calidad y cuidado, sobre todo para el medio ambiente. Esto es sumamente importante cuando se trata de plantas de especies infectadas con patógenos, o plantas genéticamente modificadas (GM). Además, varias de las especies utilizadas en la investigación científica, por ejemplo *Nicotiana tabacum* y *Arabidopsis thaliana* no son endémicas de Chile. Del mismo modo, el laboratorio que alberga a las plantas de experimentación deberá poseer una infraestructura (invernadero o cámara de crecimiento) y ubicación apropiada en el sistema de laboratorios.

Se ha descrito un sistema de distintos niveles para la realización de experimentos con plantas GM en términos de la Bioseguridad, tanto para la salud humana como para el medio-ambiente. Para proteger el medio ambiente, a continuación, se detallan las normas para el trabajo seguro con estos organismos, asumiendo que la planta GM no representa un riesgo mayor para la salud humana que la planta silvestre (ver referencia 40 en pág. 100). 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 que se encuentran ausentes en la planta no-modificada, se debería recurrir a la autoridad correspondiente (SAG) antes de comenzar los experimentos.

- ♦ 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 deben 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 debe resistir las condiciones climáticas locales para evitar la fuga de material vegetal.
- ♦ Se prefiere una estructura permanente (cámara de crecimiento dentro de un edificio, o invernadero), pero una estructura temporal bien mantenida también es adecuada (e.g. túneles invernaderos).
- ♦ Se debe controlar el acceso al recinto de crecimiento de plantas GM. Las puertas deben sellarse bien, y deben mantenerse cerradas con llave en ausencia de personal calificado. Se recomienda la instalación de dos puertas entre el recinto donde se cultiva las plantas GM y el medio ambiente y se debe capacitar al personal que no se debería dejar ambas puertas abiertas al mismo tiempo
- ♦ Es posible que no todos los recintos para el cultivo de plantas contengan plantas GM. Por lo tanto, se deben poner letreros indicando cuales son los lugares que poseen plantas GM, indicando el nombre del investigador responsable.

- ◆ Mantener el recinto limpio y ordenado, utilizando repisas resistentes a cloro u otros agentes desinfectantes.
- ◆ El piso debe ser permanente, sólido y de fácil lavado.
- ◆ Se debe evitar el ingreso de vectores animales (por ejemplo insectos, roedores, etc.) al recinto mediante el uso de mallas protectores u otras medidas apropiadas (ej. franjas y sellos de goma en las puertas).
- ◆ En el caso de invernaderos, se requiere 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 deben disponer directamente en el piso, si no que en repisas, estantes, bandejas, etc.
- ◆ Se recomienda que el agua contaminada (por ejemplo por exceso de riego) no entre 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 requiere la esterilización de todos los desechos GM antes de botarlos. Esto incluye maceteros, medios de crecimiento además de las plantas GM. Se recomienda utilizar un autoclave, aunque la incineración es una alternativa.
- ◆ Se recomienda el uso de delantales, los cuales no deben salir al aire libre sin estar protegidos (por ejemplo en una bolsa)
- ◆ El traslado de plantas de un recinto a otro (ej. al laboratorio) se debe realizar en una forma que minimice la diseminación de material vegetal (polen, semillas, etc.), mediante el uso de recipientes cerrados (ej. cajas o bolsas).
- ◆ Se debe evitar la diseminación de polen y semillas mediante el uso de bolsas en las flores (ej. *Arabidopsis* y tabaco).
- ◆ Se debe capacitar al personal que usará las instalaciones para que tome las medidas adecuadas para prevenir la diseminación de plantas GM al medio ambiente.

11. Bioseguridad en las investigaciones que hacen uso de moléculas de ADN recombinante

11.1. Generalidades

El acelerado desarrollo que ha experimentado en los últimos años un conjunto de nuevas técnicas de manipulación de seres vivos y materiales biológicos, a expensas de los avances de la biología molecular, en diversas tecnologías del ADN recombinante, tales como la electroporación, la microinyección nuclear, la fusión celular, la producción de animales y plantas transgénicos, ratones “knockout”, “gene targeting”, clonación de animales de diversas especies, etc., ha planteado la necesidad de regulaciones y controles de la investigación y de los productos producidos con estas técnicas, ante la posibilidad de 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 y la ayuda a la investigación y desarrollo en el campo de la biotecnología. Para ello deben existir normativas reguladoras y estructuras organizativas, que garanticen un nivel razonable de seguridad, que permita el desarrollo de un clima de apoyo por parte de la comunidad científica y de la opinión pública en general, al continuo avance científico y tecnológico en este campo.

Definiremos una molécula de ADN recombinante (ADN-r) como aquella construida fuera de la célula viva mediante tecnología que permite la unión de fragmentos de ADN, natural o sintético, con moléculas de ADN (vectores) que pueden replicarse en una célula viva. Hay que considerar, además, como equivalente del ADN natural a trozos 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 producen *in vivo* por unión de segmentos de ADN natural enriquecido o sus equivalentes sintéticos al ADN intracelular. En general, 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.

Se incluye en la categoría de ADN-r todos aquellos fragmentos sintéticos o naturales que, aunque carecen de codificación genética para proteínas (definida ésta por una secuencia de codones con significado biológico) corresponden a regiones de control de la expresión génica como promotores, terminadores, enhancers, silenciadores, o codifican segmentos no traducidos, como UTRs, intrones o RNA estructurales (tRNAs,

rRNAs, U-RNAs, micRNAs, snRNAi, viroides, etc.) que eventualmente se transcriben y que pudieran expresarse *in vivo* con una función estructural o regulatoria.

Resulta bastante difícil establecer normas de Bioseguridad que puedan ser supervisadas y controladas por disposiciones generales y a nivel nacional. No obstante, en este contexto, se hace imprescindible establecer normas mínimas que se cumplan en todas las instituciones o laboratorios en las que se emplea tecnología que generan ADN recombinante. Ellas deberían incluir:

- ◆ Procedimientos o métodos empleados en los laboratorios de Microbiología.
- ◆ Instalaciones de laboratorios que proporcionen las barreras físicas necesarias según la estimación del peligro que presentan los agentes biológicos. Sobre estas normas ya se han dado especificaciones en el capítulo destinado a Manipulación de Patógenos, las que pueden ser consultadas por el lector.

En el caso de los experimentos con ADN recombinante se debe considerar además, la aplicación de barreras biológicas específicas relacionadas con la manipulación y descarte de estas moléculas, a fin de reducir la probabilidad de propagación del ADN recombinante hacia el exterior (por ej. evitando el descarte directo de ADN-r al desagüe).

La seguridad de las actividades del trabajo con ADN recombinante depende de los investigadores y personas que las realizan. Se estima difícil prever todas las situaciones posibles. El criterio personal es un factor esencial en la protección de la salud y el medio ambiente.

Como parte de la responsabilidad de los científicos, al presentar proyectos de investigación que involucran tecnologías de ADN-r, al igual que con el manejo de patógenos o radioisótopos, se debe incorporar en dichos proyectos una declaración de conocimiento cabal de las regulaciones básicas de Bioseguridad con el compromiso escrito que se seguirán, de acuerdo a las normas establecidas y sus respectivas actualizaciones. En este aspecto debe ser preocupación del Investigador Responsable del proyecto en cuestión, velar por el cumplimiento de estos requisitos por parte de su grupo de trabajo, realizando u organizando las capacitaciones necesarias para ello. Deberá diseñar e implementar anticipadamente, además, planes de emergencia en caso que accidentalmente se produzcan derrames químicos, biológicos o de radioisótopos que eviten o reduzcan la contaminación del personal, así como investigar los accidentes en los laboratorios relacionados con las investigaciones con ADN-r. El personal del laboratorio debe ser instruido de los posibles peligros de las sustancias químicas y biológicas y las precauciones que deben tomarse. Debe instruirse y capacitar al personal (auxiliar especialmente) para crear un ambiente seguro y con conocimiento de la forma en que se debe proceder en caso de accidentes y emergencias.

Los CIBs deben establecer las medidas de control del trabajo con ADN recombinante y la supervisión necesaria para que éstas se cumplan.

11.2. Normas y barreras biológicas específicas

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

- ◆ Experimentos que requieren autorización de alguna agencia estatal y su aprobación por el CIB de la institución albergante de la investigación, antes de su iniciación.
- ◆ Experimentos que sólo requieren de aprobación del CIB respectivo antes de su iniciación.
- ◆ Experimentos que requieren sólo de una notificación al CIB antes de su iniciación.
- ◆ Experimentos exentos.

Experimentos que requieren autorización de alguna agencia estatal y la aprobación del CIB, antes de su iniciación.

Básicamente incluye experimentos que implican modificación genética de un microorganismo, planta o animal que eventualmente pueda ser liberado al medio ambiente.

Los experimentos que pertenecen a esta categoría no podrán iniciarse sin la presentación previa de la información pertinente sobre el experimento propuesto a las autoridades estatales correspondientes, y la aprobación específica del CIB. Los organismos de control redactarán un formulario para efectuar esta solicitud, el que debe contener:

- ◆ 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.

Para el caso de organismos liberados al medio ambiente se debería tener en cuenta, 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 serán las recomendadas en este manual, y las establecidas por las autoridades correspondientes en el momento de aprobarse el experimento en cuestión. Dichos experimentos también requieren la aprobación del CIB antes de su iniciación. Además, deberán considerarse las restricciones establecidas por ley que definen especies protegidas, áreas protegidas y experimentos acotados específicamente en lo referente a la manipulación del genoma humano, en particular embriones y la prohibición de clonación de éstos (Ley 20.120).

Estos experimentos comprenden:

- ◆ Formación deliberada de ADN-r que contiene genes para la biosíntesis de moléculas tóxicas de efectos letales en los vertebrados a una DL50 de menos de 100 nanogramos por kilogramo de peso (ej. toxinas microbianas tales como las toxinas botulínicas, toxina tetánica, toxina diftérica, neurotoxina de *Shigella dysenteriae*, genes codificantes para oncogenes). Se ha dado aprobación específica a la clonación en *E.coli* K-12 de genes que contienen el ADN con el código genético para la biosíntesis de moléculas tóxicas que tienen efectos letales en los vertebrados en dosis entre 100 nanogramos y 100 microgramos por kilogramo de peso. 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.

Experimentos que sólo requieren la aprobación del CIB antes de su iniciación.

Los investigadores que lleven a cabo experimentos pertenecientes a esta categoría, deben presentar al CIB correspondiente, con anterioridad a la iniciación de los experimentos, un protocolo detallado que contenga la siguiente información:

- ◆ 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 especificadas en estas normas. Este protocolo deberá estar fechado y firmado por el investigador y se presentará sólo al CIB local.

Al momento de presentar un proyecto para postular a fondos concursables, sean estos provenientes del estado, empresa privada, consorcio o fondos extranjeros, el proyecto deberá incluir una declaración del investigador responsable del proyecto que resguarde la Bioseguridad para los operadores experimentales y el medio ambiente, siguiendo las normas apropiadas citadas en este manual y citando el conocimiento de las mismas.

El CIB examinará todas estas propuestas antes de comenzar los experimentos. Los pedidos para un grado menor de contención en experimentos pertenecientes a esta categoría podrán ser considerados por las autoridades correspondientes bajo condiciones bien especiales. En este grupo están comprendidos:

Sub-grupo a

Experimentos en los que se emplean agentes patógenos humanos o animales (agentes de Nivel de Bioseguridad 2, 3, 4 y 5. Ver capítulo sobre Manejo de Patógenos como sistema hospedero-vector, y Anexo 3).

- ◆ Experimentos en los que se introduce el ADN-r en los agentes de Clase 2, los que se deben llevar a cabo en condiciones de contención de Nivel de BS-2.
- ◆ Experimentos en los que se introduce ADN-r en agentes de Clase 3, deben llevarse a cabo en condiciones de contención de Nivel de BS-3.
- ◆ Experimentos en los que se introduce ADN recombinante en agentes de Clase 4, pueden llevarse a cabo en condiciones de contención Nivel de BS-4.
- ◆ Experimentos que impliquen uso de agentes de Nivel 5, las condiciones de contención para introducir el ADN-r en agentes importados al país (Nivel BS-5), se establecerán para cada caso en particular, y de acuerdo con el reglamento específico del país en lo que respecta al manejo de agentes patógenos extraños a su territorio.

Sub-grupo b

Experimentos en los cuales el ADN proveniente de agentes patógenos de humanos o animales (niveles de Bioseguridad 2, 3 y 4) 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 de Clase 2 o Clase 3 se transfieren a organismos procarióticos o eucarióticos inferiores no patógenos, pueden llevarse a cabo en condiciones de contención de nivel de BS-2.
- ♦ Los experimentos con ADN-r en los que el ADN de agentes de Clase 4 se transfiere a organismos procarióticos o eucarióticos inferiores no patógenos, pueden llevarse a cabo en condiciones de contención de Nivel de BS-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 serán de Nivel de BS-4.

Los experimentos pertenecientes a Nivel de BS-1 o mínimo estarán exentos de atenerse a estas normas.

Las autoridades correspondientes determinarán las condiciones de contención correspondientes a los experimentos en los que el ADN de los agentes de Clase 5 (agentes patógenos introducidos al país) se transfiere a organismos procarióticos o eucarióticos inferiores no patógenos después de examinar cada caso.

Sub-grupo c

Experimentos en los que se emplean virus infecciosos de ADN o de ARN animal o vegetal o 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 2, 3 ó 4 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 infecciosos o defectuosos pertenecientes a la Clase 5 podrán realizarse en presencia de virus auxiliares, sólo después de analizar el riesgo en cada caso, y de acuerdo con las normas que establezcan las autoridades sanitarias correspondientes.
- ♦ 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 BS-1.

Sub-grupo d

Experimentos con ADN recombinante 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 BS-1 y apropiadas de aplicar al organismo objeto de estudio. No obstante, es importante que el investigador haya demostrado

previamente que la fracción del genoma vírico empleado no conduzca a una infección viral productiva en un modelo celular homólogo *in vitro*.

- ◆ Cuando en los experimentos se emplean plantas y animales enteros no especificados en el párrafo anterior, el CIB de la institución albergante de la investigación determinará las condiciones apropiadas de contención.

Subgrupo e

Experimentos en los que se emplean más de 10 litros de cultivo. El CIB decidirá las condiciones apropiadas de contención. Cuando corresponda se prepararán normas de contención física para el uso en gran escala de organismos que contienen moléculas de ADN recombinante.

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

Experimentos no incluidos en las secciones anteriores de este capítulo. Todos esos experimentos pueden llevarse a cabo en condiciones de contención del Nivel de BS-1. Para los experimentos pertenecientes a esta categoría se requiere un protocolo detallado, fechado y firmado por el investigador, y presentado al CIB local en el momento de la iniciación del experimento. El CIB examinará todas esas propuestas, pero no se requiere que el CIB efectúe el examen antes de la iniciación del experimento.

Experimentos que implican la formación de moléculas de ADN-r que contienen menos de dos tercios del genoma de cualquier virus eucariótico.

Las moléculas de ADN-r que contienen 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 BS-1. En dichos experimentos debe demostrarse que las células carecen de virus auxiliares para las familias específicas de los virus defectuosos que se están utilizando. En presencia de virus auxiliares deberá recurrirse a los procedimientos indicados en la sección sobre virus (9.5 y 9.6).

Nota: El ADN puede contener fragmentos de genoma de virus procedentes de más de una familia, pero cada fragmento debe ser de menos de dos tercios de un genoma.

Experimentos exentos

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

- ◆ Las que no existen en organismos o virus (ej. secuencias de adaptadores sintéticos con sitios de restricción para realizar "linker mutagenesis").

- ◆ Las que constan enteramente de segmentos del ADN de una sola fuente no cromosómica o vírica, aunque uno o más de los segmentos sean equivalentes sintéticos (ej. plásmidos o virus nativos no asociados a patogenicidad que pueden contener segmentos sintéticos pero de su propia secuencia).
- ◆ Las que constan enteramente del ADN de un hospedero procariótico, incluidos sus plásmidos o virus autóctonos cuando se propagan sólo en ese hospedero (o una cepa estrechamente relacionada de la misma especie) o cuando se transfieren a otro hospedero por medios fisiológicos bien establecidos.
- ◆ Los compuestos enteramente de ADN procedente de un hospedero eucariótico, incluidos sus cloroplastos, mitocondrias o plásmidos (pero excluidos los virus) cuando se propagan sólo en ese hospedero (o una cepa estrechamente relacionada de la misma especie).
- ◆ 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 recombinante 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 o no pueden eximirse de estas normas, y que se detallan a continuación:

- ◆ ADN recombinante en cultivo de tejidos. Las moléculas de ADN recombinante 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, salvo las excepciones que se enumeran a continuación:
 - Los experimentos descritos en la sección 1 para los que se requiere el examen específico de una agencia estatal y la aprobación del CIB antes de su iniciación.
 - Los experimentos en los que se emplea ADN de organismos de las clases 3, 4 ó 5 o de células reconocidamente infectadas con estos agentes.
 - Los experimentos en los que se recurre a la introducción deliberada de genes que contienen el código para efectuar la biosíntesis de moléculas tóxicas en vertebrados.
- ◆ 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 eximen de cumplir con estas guías siempre que:

- el hospedero *E. coli* no contenga plásmidos capaces de conjugarse o fagos transductores generalizados, y
 - 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). Cuando se emplea un vector no conjugable, el hospedero *E. coli* K-12 puede contener plásmidos capaces de conjugarse ya sea autónomos o integrados, o fagos transductores generalizados.
- ◆ Para estos experimentos eximidos de cumplir con las normas se recomiendan condiciones de contención física Nivel de BS-1. Sin embargo, hacen la excepción a esta norma:
 - Los experimentos descritos en la sección 1, que requieren examen específico de una agencia estatal y aprobación del CIB antes de su iniciación.
 - 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 eximen de cumplir con estas guías, a excepción de los que se enumeran más adelante.
 - ◆ Para estos experimentos eximidos de cumplir con las guías, se recomiendan condiciones de contención física Nivel de BS-1. Sin embargo, hacen la excepción a esta norma:
 - Experimentos que requieren la autorización de una agencia estatal y la aprobación del CIB antes de su iniciación (descritos en pág. 59).
 - Experimentos en los que se emplean organismos de la clase 3, 4 ó 5 o células reconocidamente infectadas con estos agentes. Estos pueden realizarse en las condiciones de contención indicadas en la sección 2, previo examen y aprobación del CIB.
 - Experimentos en gran escala (ej. más de 10 litros de cultivo) requieren el examen y aprobación previos del CIB.
 - Experimentos 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 BS-1.

- ♦ Para los experimentos de fermentación en gran escala se recomiendan las condiciones de contención física Nivel de BS-1 a gran escala. Sin embargo, después de examinar el CIB los datos apropiados de un sistema determinado de hospedero-vector, se permite cierta libertad en la aplicación de las condiciones. No obstante, hacen excepciones a esta norma:
 - Experimentos descritos en la sección 1 que requieren el examen y aprobación específicos de una agencia estatal y del CIB antes de su iniciación.
 - Experimentos en los que se emplean organismos de la Clase 3, 4 ó 5 o células reconocidamente infectadas con estos agentes. Estos pueden realizarse en las condiciones de contención indicadas en la sección, previo examen y aprobación del CIB.
 - Experimentos en gran escala (más de 10 litros de cultivo).
 - 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 guías las moléculas de ADN recombinantes enteramente derivadas de elementos extracromosómicos de los organismos enumerados a continuación, incluidos los vectores como fago Lambda, derivado Lambdoide o fagos del tipo filamentoso, también lalmados Ff, o plásmidos incapaces de conjugarse, propagados y mantenidos en diversos microorganismos Gram-positivos⁵.
- ♦ No obstante, se exceptúan de esta norma:
 - Los experimentos que se describen en la página 59, que requieren autorización de una agencia estatal y aprobación del CIB antes de su iniciación.
 - Los experimentos en gran escala (v.gr., más de 10 litros de cultivo) requieren el examen y aprobación previos del CIB.

El manejo de cualquier otra bacteria Gram-positiva, no especificada en la lista en el pie de página debe ser consultado al CIB.

⁵ *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus brevis*, *Bacillus amylosacchariticus*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium acetobutylicum*, *Lactobacillus casei*, *Listeria grayi*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivariouis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus avium*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus durans*.

11.3. Clasificación de agentes etiológicos

Para los experimentos en investigaciones con ADN recombinante en nuestro país, se usará la misma clasificación de Agentes Etiológicos dados en los Anexos 3 y 4, y que representan aquellos que por ahora tienen en Chile un interés directo e inmediato, o se visualiza su uso en un futuro no lejano.

El uso de cualquier microorganismo no especificado en esas listas, debe ser consultado al CIB.

11.4. Regulación sobre manejo y liberación al ambiente de organismos modificados genéticamente

En la actualidad y debido al incremento de la investigación Biotecnológica que involucra desarrollar organismos transgénicos (plantas–microorganismos – animales), en muchos países ya existen normas sobre este tema y en particular para controlar su liberación al ambiente.

En general, estas normas son similares a las que regulan los experimentos con ADN-r, con algunas disposiciones propias, lo cual puede consultarse en las Referencias 36 y 37 (pág. 99-100), las que, a su vez, contienen numerosas otras referencias de disposiciones sobre el tema.

12. Bioseguridad en el manejo de isótopos radiactivos (radionúclidos)

12.1. Conceptos y definiciones generales

El uso de isótopos radioactivos (IR) se ha constituido en una metodología de investigación en las más variadas áreas de la salud, industria y educación. La investigación en Ciencias Biológicas y exploración clínica en Medicina Humana también está haciendo importante uso de los radioisótopos en nuestro país. Esto ha llevado, tanto a organismos de Gobierno como aquellos que albergan laboratorios en los que se manipulan estos elementos a desarrollar políticas de control que permitan un manejo adecuado, que disminuyan el riesgo tanto del operador como de otras personas que indirectamente puedan ser afectadas por radiaciones derivadas de un uso inadecuado de estos elementos.

Existe en la actualidad una extensa literatura y en el caso de Chile en particular, disposiciones legales para abordar el problema del efecto nocivo de las radiaciones, especialmente de las ionizantes, así como una serie de otros aspectos que escapan a la intención de esta Normativa y que pueden con ventaja ser consultadas (Ver referencias: 10, 11, 13, 15-24 en págs. 97-98)).

Por otra parte, es nuestra idea que aunque esta normativa tiene una orientación general, sirva particularmente al uso de los investigadores en Ciencias Biológicas o Biotecnología, dando al mismo tiempo una visión de lo que acontece a nivel clínico.

Las instituciones que albergan proyectos de investigación que usan IR (isótopos radiactivos) deben a su vez, a través de su CIB, controlar el buen manejo de estos elementos, aportar las disposiciones e instalaciones generales para su mejor empleo y diseñar normativas de uso interno que complementen aquéllas dadas en Chile por la autoridad competente en estas materias, así como las que deriven de este Manual.

Las radiaciones ionizantes se definen como aquéllas cuyas partículas cargadas, y/o fotones, generan iones al atravesar la materia contra la que impactan. Cuando esta radiación se produce sobre tejidos vivos producen cambios más o menos profundos, dependiendo de la radiosensibilidad del sistema, de la cantidad y tipo de radiación, energía y dosis absorbida. La ionización puede involucrar daño a la célula, núcleo y estructuras moleculares en grado variables.

El efecto en los seres vivos puede ser agudo o crónico, y afectar a células somáticas o germinales, dependiendo de la tasa de dosis y de la dosis⁶ total de radiación que se reciba. En el caso de una dosis aguda, por sobre 1 Gray (100 Rad)⁷, a cuerpo entero,

⁶ Dosis: Es la cantidad de radiación absorbida.

⁷ Gray (Gy) = Unidad de radiación absorbida, igual a 100 Rad.

produce el síndrome agudo de radiación. Este, según la dosis recibida, puede expresarse a través del síndrome de médula ósea, gastrointestinal, o del sistema nervioso central.

La radiación puede producir otras manifestaciones como carcinogénesis (Leucemia, Cáncer tiroideo, etc.), Inflamación (dermatitis, rectitis actínica), Cataratas o bien efectos genéticos.

Estos cambios, particularmente son a dosis altas, generan en el ser humano, en particular, un conjunto de síntomas macroscópicos y a nivel celular que se engloban bajo el nombre de "Enfermedad por radiación" y pueden o no ser reversibles, dependiendo justamente de la dosis de radiación absorbida.

Es necesario señalar además, que el efecto de las radiaciones puede no ser inmediato, sino con tiempo variable de latencia como es justamente la inducción, en personas expuestas, de Leucemia o Cáncer.

Por otra parte, las radiaciones no ionizantes, de las cuales la más usada en medios biológicos es la luz ultravioleta, es energía de tipo electromagnética que tienen un especial efecto local, el cual puede ser serio, especialmente cuando afecta tejidos muy sensibles como la córnea, lo que obliga a tomar medidas que eviten el riesgo de exposición.

Las radiaciones ionizantes de uso más frecuente en laboratorios de investigación biológica son: Gamma, Beta y Alfa. Un esquema con los principales elementos radiactivos de uso en estos laboratorios se muestra en la Tabla N° 1, en las que se especifica la actividad típica remanente en los residuos generados por tales prácticas.

Sievert (Sv) = Unidad de dosis equivalente, igual a 100 Rad.

Rad = Dosis de radiación absorbida.

Rem = Roentgen hombre equivalente (Roentgen equivalent man), es igual a dosis absorbida en Rads multiplicada por los factores de calidad y distribución y cualquier otro factor modificante (15).

TABLA N ° 1
PRINCIPALES RADIOISÓTOPOS USADOS EN
INVESTIGACIÓN BIOLÓGICA

Composición Física	Descripción utilización	Radioisótopo	Período de desintegración	Actividad remanente
Orgánicos	Investigación Biológica	³ H	12,3 a	Hasta 50 GBq
Solventes	Marcación moléculas	³ H	12,3 a	Hasta 50 GBq
Solventes	Investigación Biológica	¹⁴ C	5730 a	Hasta 10 MBq
Exhalación CO ₂	Marcación			
Sólido, líquido	Emisión de Positrones Tomografía	¹⁸ F	1,8 h	Hasta 500 MBq
Efluente Líquido	Mediciones Clínicas	²² Na	2,6 a	Hasta 50 kBq
	Investigación Biológica	²⁴ Na	15,0 h	Hasta 5 GBq
Sólido, líquido	Terapia Clínica	³² P	14,3 d	Hasta 200 MBq
Efluente	Investigación Biológica	³³ P	25,4 d	Hasta 50 MBq
Sólido, líquido	Mediciones Clínicas	³⁵ S	87,4 d	Hasta 5 GBq
Efluente	Investigación Biológica y Médica	³⁵ S	87,4 d	Hasta 5 MBq
Gaseosos, sólidos, líquidos	Investigación Biológica	³⁶ Cl	3,01 x 10 ⁵ a	Hasta 5 MBq
Líquido, sólido	Mediciones Clínicas	¹²⁵ I	60,1d	Hasta 11,1 GBq
Líquido, sólido	Terapia Clínica	¹³¹ I	8 h	Hasta 11,1 GBq
Principalmente sólido	Investigación Biológica	⁴⁵ Ca	163 d	Hasta 100 MBq
Algunos líquidos	Mediciones Clínicas	⁴⁷ Ca	4,5 d	Hasta 1 GBq
Sólido, líquido	Investigación Biológica y Médica	⁴⁶ Sc	83,8 d	Hasta 500 MBq
Sólido	Mediciones Clínicas	⁵¹ Cr	27,7 d	Hasta 5 MBq
Principalmente efluentes líquidos	Investigación Biológica	⁵¹ Cr	27,7 d	Hasta 100 kBq
Sólido, efluentes líquidos	Mediciones Clínicas	⁵⁷ Co	271,7 d	Hasta 50 kBq
Principalmente efluentes líquidos	Investigación Biológica	⁵⁸ Co	70,8 d	-
Sólido	Investigación Médica y mediciones	⁵⁹ Fe	44,5 d	Hasta 50 MBq

Composición Física	Descripción utilización	Radioisótopo	Período de desintegración	Actividad remanente
Sólido, efluentes líquidos	Investigación Médica y mediciones	⁶⁷ Ga	3,3 d	Hasta 200 MBq
Sólido, líquido	Investigación Biológica y Médica	⁸⁶ Rb	18,7 d	Hasta 500 MBq
Sólido, líquido	Terapia Clínica	⁸⁹ Sr	50,5 d	Hasta 300 MBq
Sólido, orgánico, líquido	Terapia Clínica y mediciones Investigación Biológica y Médica	⁹⁰ Y	2,7 d	Hasta 300 MBq
Sólido, líquido	Investigación Biológica y Médica	⁹⁵ Nb	35,0 d	Hasta 500 MBq

12.2. Aspectos jurídicos chilenos sobre el problema⁸

El Decreto N° 133 (18) del 23 de Agosto de 1984, incluido en la Edición vigente del Código Sanitario (Edición Oficial, 02 de Noviembre de 1984 aprobada por Decreto N° 930 del 22 de Noviembre de 1984 del Ministerio de Salud), define, en su página 213 en el inciso b del artículo 6º, qué se entiende en términos legales por una sustancia radiactiva.

Sustancia Radiactiva: Cualquier sustancia que tenga una actividad específica mayor de 2 milésimas de microcurio por gramo o equivalente. En otras unidades, corresponde a 74 Bq/g.

⁸ Los organismos de Gobierno que tienen a su cargo la regulación de estos elementos, están en permanente revisión de estas disposiciones, lo que hace necesario estar alerta sobre nuevos Decretos que actualicen o modifiquen estas disposiciones.

Es decir, se entiende por sustancia radioactiva, en el marco de la ley vigente, cualquier sustancia que tenga una actividad específica mayor a 4400 DPM/gr.^{9, 10}.

Considerando que en la investigación biológica se usan preferentemente soluciones acuosas de densidad general aproximada de 1 gr/ml, este límite para sustancia radiactiva, de > 74 Bq/g, corresponde a una solución de actividad específica mayor que 4400 DPM/ml, medida en cámara de ionización para calibración, multicanal, o cualquier detector de actividad. Debemos dejar constancia que, en los términos legales, no se especifica el tipo de radiación sino solamente su actividad específica.

En el mismo Decreto, página 212 artículo 3º, se establece que “toda persona que se desempeñe en la instalaciones para operaciones radiactivas de categoría II y III o que maneje equipos generadores de radiaciones ionizantes y está expuesta a dichas radiaciones, deberá contar con autorización de desempeño del Ministerio de Salud”. Las medidas de Protección Radiológica y las normativas pertinentes fueron enunciadas por el legislador en el Decreto 03 del 3 de Enero de 1985, Reglamento de Protección Radiológica de Instalaciones Radioactivas (21), que complementa el enunciado anterior. Este último Decreto se refiere explícitamente a las Medidas de Protección Radiológica para el personal ocupacionalmente expuesto mencionadas en el Decreto Supremo N° 133, Título I, así como en el Decreto 87 (22) del 24 de Diciembre de 1984, sobre protección física en las instalaciones y de los materiales nucleares.

El legislador exceptuó explícitamente de esta ley a las personas que reciban dosis provenientes de la radiación como consecuencia de un diagnóstico o tratamiento médico. La ley vigente en el artículo 16 del Decreto 133 explicita formalmente que:

Toda persona que desarrolle actividades en instalaciones de categoría II y III y relacionadas con el uso, manejo o manipulación de sustancias radioactivas, u opere equipos generadores de radiaciones ionizantes, deberá ser autorizada por el Ministerio de Salud a través del respectivo SEREMI de Salud. Esta autorización tendrá validez en todo el territorio nacional.

La legislación actual, Reglamento N°133 de 1984, exige a los operadores de material radiactivo:

⁹ DPM = Desintegraciones por minuto.

¹⁰ Si una personal natural o jurídica opera, manipula o utiliza sustancias o soluciones en que la sumatoria de las actividades específicas mayor a 4400 DPM/gr ó 4400 DPM/ml (asumiendo una densidad de 1 gr/ml) será entonces reglamentada en su actividad por el articulado de ese Decreto.

- ◆ Licencia de Operación: para la cual se debe acreditar (Artículo 17).
- ◆ Poseer Licencia secundaria o equivalente.
- ◆ Haber aprobado el Curso de Protección Radiológica dictado por la CCHEN, o, por los Servicios de Salud, el Instituto de Salud Pública, u Organismos autorizados por el Ministerio de Salud, o haber convalidado estudios realizados al efecto, ante los Servicios de Salud.

No obstante lo anterior, podrán optar a esta autorización aquellas personas que acrediten fehacientemente haberse desempeñado en actividades por un período de a lo menos tres años. Para estos efectos la Autoridad Competente, cuando lo estime conveniente, podrá exigir que el solicitante rinda un examen acerca de materias de protección radiológica (Artículo 18).

Se exigirá a los interesados la presentación de su historial dosimétrico o, en su defecto, el examen médico correspondiente.

Las autorizaciones serán otorgadas por un plazo máximo de tres años. Para su renovación, deberá considerarse el historial dosimétrico del interesado. La dosimetría podrá efectuarse por otro organismo habilitado para tales efectos por el Ministerio de Salud (Artículo 19).

Además de preocuparse del individuo que usa sustancias radiactivas y establecer normas de protección, el legislador ha definido normas que regulan el ambiente de trabajo y en el cual, además se tipifica este trabajo. En el Título III, artículo 7º del Reglamento aprobado por Decreto 133 (18) del 23 de Agosto de 1984, se asimilan, desde el punto de vista del riesgo y protección radiológica con una buena aproximación, los laboratorios de investigación biológica con una instalación de segunda categoría, en tanto las de primera corresponden a aceleradores de partículas, plantas de irradiación, laboratorios de alta radiotoxicidad, radioterapia y roentgenterapia profunda, gammagrafía y radiografía industrial, y su control corresponde a la Comisión Chilena de Energía Nuclear (C.C.H.E.N). Los de tercera categoría incluye: a los lugares que usan fuentes selladas de empleo industrial, tales como pesómetros, densitómetros, medidores de flujo o nivel, detectores de humo, medidores de espesores, etc.; en esta tercera categoría quedan asimismo comprendidos las fuentes patrones, estimuladores cardíacos radioisotópicos, marcadores o estimuladores o estimuladores de uso médico, equipos de Rayos X para control de equipaje, correspondencia, etc., fluoroscopia industrial y difractómetros, lo que también sería controlado por el Ministerio de Salud.

El laboratorio de Investigación Biológica se considera así en el contexto de la ley vigente, como un laboratorio de segunda categoría que utiliza sustancias radiactivas de baja radiotoxicidad, no utiliza elemento alguno de alta o muy alta radiotoxicidad, con la excepción del radioisótopo Iodo y con frecuencia usa sustancias radiactivas de baja o moderada radiotoxicidad, como Fósforo P32, Tritio H3, Carbono C14, Cromio Cr51, etc.

Este concepto de radiotoxicidad se refiere al daño potencial de un isótopo radioactivo en el tejido vivo, por la adsorción de energía debida a la desintegración del material que se ha incorporado al cuerpo humano. En este sentido se insiste en el especial cuidado que se debe tener con el uso de I-125 ó I-131 que se consideran de radiotoxicidad alta.

A este efecto, el Reglamento N°133/1984 y Decreto N°3/1985 del Ministerio de Salud establecen que toda instalación, entendiéndose por tal el recinto o dependencia habilitada especialmente para manipular, almacenar o utilizar sustancias radiactivas u operar generadores de radiaciones ionizantes, y toda persona que opere en ellas o esté expuesta a radiaciones, deberá contar, para poder funcionar, con la autorización sanitaria correspondiente otorgada por el Servicio de Salud.

Para la obtención de autorización de instalaciones de Primera Categoría se debe presentar el plano de ubicación, anteproyecto de construcción, planos y diseño, blindajes, manuales de equipos, sistemas de seguridad, de control y auxiliares; plan de utilización, describiendo los materiales radiactivos y equipos generadores de radiaciones ionizantes y utilización estimada de ellos.

Para la obtención de autorización de instalaciones de Segunda Categoría, en la cual clasifica la mayoría de los laboratorios de investigación biológica del país, se debe presentar el Manual de operación y mantenimiento de sistemas y equipos, descripción de procedimientos, plan de emergencia en caso de accidente, informe de funcionamiento y de seguridad radiológica.

Para la obtención de autorización de instalaciones de Tercera Categoría se debe presentar el Plano de la instalación y especificaciones técnicas de los equipos.

Igualmente, para el cierre de cualquiera de ellas, el responsable debe presentar la solicitud de cierre indicando procedimientos y sistemas de seguridad a adoptar para ello.

Debemos enfatizar que en todo programa para normar y controlar el manejo de IR, debe existir una fluida y eficaz coordinación entre el CIB y los organismos dependientes de la Comisión Chilena de Energía Nuclear y el Ministerio de Salud, los que, como autoridades competentes en estas materias, disponen de normas, regulaciones y servicios que facilitan a nivel de los laboratorios de investigación, el uso de estos elementos en forma adecuada.

12.3. Aspectos básicos para un programa de protección contra las radiaciones

Los objetivos de un programa de protección radiológica contra radiaciones ionizantes, comprende:

1. Que exista una buena justificación de la práctica, con una evaluación de la relación Riesgo-Beneficio.
2. Adoptar las medidas necesarias para mantener el nivel mínimo de exposición dentro del desempeño apropiado a sus funciones, organizar el trabajo de tal suerte que se desarrolle de acuerdo con el mínimo de riesgo, que es un valor más bajo que los límites de dosis.
3. Evitar la sobreexposición por accidente o negligencia, lo que implica un conocimiento cabal del material radioactivo y sus usos.
4. Considerar el concepto ALARA¹¹. Es conveniente no llegar a los valores límites de dosis sino mantenerse bajo ellos.

Teniendo presente estos objetivos básicos, una normativa debe contemplar:

Procedimientos técnico-administrativos adecuados, sobre materiales y equipos que generan radiaciones, sus condiciones y empleo, y que permitan establecer los límites de exposición a las radiaciones de fuente externa, así como el límite de incorporación (LIA, CDA y CDS)^{•+*}.

Capacitación. Al igual que lo explicado en el Capítulo destinado a BS en el manejo de patógenos, el CIB de cada institución debe desarrollar programas de capacitación y entrenamiento para s personal involucrado en el uso de IR, con cursos de protección radiológica reconocidos por la autoridad que competente, de modo que los trabajadores cuenten con su Licencia de material radiactivo.

Identificación de las fuentes de emisión. Lo cual comprende un conocimiento claro acerca de las fuentes de radiaciones que se están utilizando, forma y lugares donde se usa.

En este sentido, y tal como lo establecimos anteriormente, la coordinación con los sistemas de salud obliga a solicitar licencia para el uso de este tipo de material, licencia

9

• - ALARA : “As low as reasonable achievable” (Tan bajo como sea razonablemente alcanzable).

+ = ALI : “Annual limit of intake” (Límite anual de incorporación). En español LIA.

* = CDA : Concentración derivada en aire.

que se debe otorgar tras una inspección y evaluación acuciosa del lugar donde ellos se usan. Una evaluación previa de estos requerimientos debe ser efectuada en cada institución por el CIB.

Descontaminación, eliminación, transporte y almacenamiento.

Existe una reglamentación vigente (Ley de seguridad nuclear 18.302, Diario Oficial 2.5.84 y Decreto 12, Diario Oficial Junio 10, 1985). (19, 20).

Estos son aspectos muy críticos en una norma que regule el Manejo de IR, sobre el particular existen Normas Nacionales (Código Sanitario) e internacionales, las cuales pueden y deben ser consultadas cuando el CIB de cada institución organice su control en este campo. Sin embargo, con el fin de facilitar la labor normativa y de control de los CIB, que complementan y ayudan a la de organismos competentes (Ministerio de Salud y C.CH.E.N) es necesario enfatizar en algunos aspectos relevantes.

a) Contaminación

Si el manejo de materiales radioactivos cumple las normas establecidas no debería producirse contaminación, o ello constituir un riesgo mínimo. En caso contrario, deben observarse a lo menos, los siguientes procedimientos:

- ♦ Elimine toda toalla, mantel, material absorbente, o delantal que haya sufrido contaminación, y reemplácelos por elementos limpios. Elimine lo contaminado en un receptáculo "ad-hoc", claramente señalizado para material radiactivo. Este material deberá ser chequeado midiendo su nivel de actividad, para destinarlo como desecho radiactivo en caso que esté por sobre los 74 Bq/g, o, sobre las 4000 DPM/g.
- ♦ Lávese cuidadosamente las manos, sin producirse erosiones, con jabón muy alcalino; colóquese guantes limpios; mida la contaminación tratando de llegar al límite aceptable (L.C.D.S)*. En caso que no pueda alcanzar el límite, solicite ayuda especializada al Servicio de Radiomedicina de la CCHEN.
- ♦ Si el piso o mesón es el que sufre la contaminación, debe primero absorberlo con papel absorbente usando pinzas, elimine el papel al receptáculo para este tipo de material.
- ♦ Limpie con detergente (Tabla N° 2), evite la diseminación de la contaminación al usar agua.

* L.C.D.S.: Límite de concentración derivado de superficie (O.I.E.A.).

- ◆ El material contaminado debe monitorearse con instrumentos adecuados para determinar qué elementos de vestir pueden ir a la lavandería. Si es material de limpieza o de laboratorio, va a un receptáculo hasta su decaimiento físico, se entiende que esto último es válido para los IR de período de desintegración muy corto, no mayor a 100 días. El laboratorio debe mantenerse limpio: evitar acumular material contaminado, lavar el material de vidrio tan pronto se use y en la forma adecuada para descontaminarlo. (Ver Tabla N° 2).
- ◆ El laboratorio debe ser monitoreado periódicamente: una práctica habitual debe considerar el monitoreo de mesones, equipos y piezas utilizadas, cada vez que se termina una operación.
- ◆ En un laboratorio de Radioisótopos (Laboratorio caliente) no está permitido comer, beber, fumar o pipetear con la boca, maquillarse, y debe usarse siempre guantes para manipular materiales radioactivos, objetos contaminados o sospechosos de estarlo.
- ◆ Es necesario recordar, como dijimos al inicio, que en los laboratorios de investigación por lo general se usan niveles bajos de radiactividad. Sin embargo, ello no invalida la observación de las normas mínimas de protección personal, de descontaminación y conducta en el laboratorio.
- ◆ También es altamente recomendable que las instalaciones dispongan de un laboratorio diseñado y equipado de acuerdo a las normas establecidas en varias publicaciones de organismos internacionales (15, 23, 27), y donde se efectúen estas manipulaciones exclusivamente.

En la Tabla N° 2 se aprecian los descontaminantes existentes y las indicaciones de uso de acuerdo al material contaminado.

T A B L A N° 2
AGENTES DESCONTAMINANTES DE USO EN
DIFERENTES TIPOS DE MATERIALES

AGENTE DESCONTAMINANTE	TIPO DE MATERIAL CONTAMINADO						
	VIDRIO	ACERO INOXIDABLE	ALUMINO	PLOMO	GOMA		
A) <u>Para remover la superficie o el contaminante</u>							
1) Acidos u otro reactivo fuerte	-	Ac. Crómico	- H2 SO4 1% inhibido con Ac.Fosfórico 20%	-	NaOH	Agua Regia	Acetona
2) Abrasivos corrientes		Abrasivos en polvo o pastas, escobillas de acero o lana de acero					
3) Abrasivos especiales		Vapor o Presión		Herramientas cortantes			
B) <u>Sólo para remover el contaminante</u>							
1) Detergentes	Pueden usarse detergentes comerciales.						
2) Reactivos descontaminantes	Soluciones preparadas con los siguientes reactivos:						
Incluidos quelantes o separadores	-	Carbonato de sodio o un detergente comercial			5 - 10 %		
	-	E.D.T.A.			1 - 2 %		
	-	Ac. Cítrico			1/2 -1%		
	La solución a emplear tendrá una concentración de acuerdo con la experiencia en su uso.						

Adaptada de: Radiation Protection Procedures, Safety Series # 38 pág. 151. IAEA, Viena 1973.

NOTA: En varios catálogos de radioisótopos y accesorios, figuran kit de descontaminación y soluciones descontaminantes.

b) Eliminación

Cualquier eliminación de material radiactivo, ya sea líquido, sólido o gaseoso, debe ser autorizada en la Licencia de Operación de la instalación y sus puntos de descarga deben ser controlados en un registro actualizado, que debe ser revisado por la Autoridad Competente. En general, la eliminación al sistema de alcantarillado de material soluble o en suspensión es permitido, si ellos no sobrepasan los 74 Becquerel/gr, o aquellos que estando por sobre este valor están expresamente autorizados por la autoridad licenciante.

Como ya dijimos, para la eliminación de material contaminado de semivida corta, pueden usarse tachos debidamente marcados y almacenados en un lugar cerrado, los cuales serán monitoreados periódicamente para determinar su limpieza y reutilización.

Para la eliminación de desechos radiactivos, de un laboratorio de investigación, o de otras instalaciones radiactivas y/o nucleares en Chile, la Comisión de Energía Nuclear a través de su Unidad de Gestión de Desechos Radiactivos, presta servicios para el confinamiento de desechos radiactivos, en instalaciones autorizadas.

c) Transporte y almacenamiento

Para el caso particular del uso de IR en los laboratorios de investigación, el transporte tiene menos importancia porque ellos reciben los IR debidamente embalados y en contenedores de plomo de un espesor adecuado. Lo que cobra importancia es el traslado de material radiactivo, dentro del laboratorio, el cual debe realizarse en recipientes adecuados y bajo registro, de modo que se tenga en todo momento la trayectoria conocida del material radiactivo que se utiliza.

El almacenamiento de material radiactivo debe hacerse en un estante o cubículo específico para ello, debidamente señalizado y con llave de uso o accionamiento controlado; no removerlos de ahí sino sólo cada vez que se necesite usarlos, y volverlos al depósito si no se usa totalmente, registrando la acción. Dependiendo del tipo de investigación o uso del material radiactivo, el laboratorio de IR, debe tener un refrigerador de uso exclusivo, donde se conserve el material.

d) Del personal

El personal que manipula los IR, no obstante tengan una baja emisión y aparte de contar con un laboratorio *ad hoc*, debidamente equipado para evitar el movimiento excesivo del material, así como su uso en otras labores, debe disponer de delantal de uso exclusivo, guantes, mascarilla, anteojos y dosímetros personales, y de instalaciones para el lavado personal dentro del mismo laboratorio.

12.4. Normas generales de protección para el uso de radioisótopos

(Adaptadas de las normas generales del NIH; ref. 15 y 27 en págs. 98-99).

No se permite PIPETEAR CON LA BOCA en las habitaciones designadas para el uso o almacenamiento de materiales radioactivos. Esto se aplica tanto a los líquidos no radioactivos como los radioactivos.

No se permite COMER, BEBER, MAQUILLARSE O FUMAR en las habitaciones designadas para el uso de radioisótopos.

Es obligatorio el uso de GUANTES Y DELANTAL DE LABORATORIO cuando se manipulen materiales radioactivos.

Es obligatorio el uso de DOSÍMETRO personal de cuerpo entero designado para cada persona, excepto para trabajar sólo con H-3, C-14, S-35 de baja actividad. El dosímetro debe ser cambiado por uno nuevo puntualmente de acuerdo con las condiciones establecidas en la autorización correspondiente. La autoridad licenciante puede exigir, además, el uso de un dosímetro de muñeca y/o el anillo "TLD" (dosímetro termoluminiscente) cuando la práctica lo haga aconsejable.

Cada vez que se trabaje con IR deben monitorearse frecuentemente LAS MANOS, LOS ZAPATOS Y LA ROPA para detectar posibles contaminaciones.

El encargado del laboratorio debe hacer una INSPECCIÓN del área de trabajo por lo menos una vez al día cuando se trabaje con radioisótopos. Además, debe hacerse una inspección mensual y cada vez que se sospeche de una contaminación con un contador de radiación, un frotis, o ambos, según sea apropiado. Los resultados deben registrarse en el libro de Registro y Control del Laboratorio.

Para trabajar con RADIOISÓTOPOS VOLÁTILES o materiales radioactivos que puedan ser dispersados en el aire, es obligatorio hacerlo bajo campana de protección aprobada para trabajar con materiales radioactivos. Para el caso de marcar con yodo radiactivo, la campana debe contar con sistema de extracción y un filtro que retenga el yodo, y con una caja de protección especialmente diseñada.

LAS SUPERFICIES deben ser fácilmente descontaminables. Se recomienda cubrir, con papel absorbente puesto sobre plástico, la superficie alrededor del área de trabajo con materiales radiactivos. Además, cuando sea práctico, usar una bandeja, sobre la cual debe ponerse el papel para contener los posibles derrames.

EL TIEMPO, LA DISTANCIA Y LOS BLINDAJES deben ser utilizados al máximo para que las dosis por irradiación externa de las personas en el área de trabajo se mantenga "lo más baja que sea razonablemente posible".

NUNCA DEBE MEZCLARSE RADIOISOTOPOS EN UN MISMO CONTENEDOR DE ALMACENAMIENTO. Para almacenar RESIDUOS RADIOACTIVOS, LIQUIDOS utilice los recipientes rotulados suministrados por el CIB, separando los materiales de vida media o período de desintegración muy corto (menor que 100 días) de los de vida media larga. Por lo tanto, los residuos de cada radionúclido deben almacenarse separados. No se debe llenar el recipiente por encima de la línea de nivel máximo del líquido. No se deben desechar los líquidos radioactivos por los lavamanos. Los desechos radioactivos de alta actividad y bajo volumen deben ser manipulados por separado, en vez de ser diluidos en los recipientes de desecho de alto volumen.

No botar líquidos de centelleo ("LSC") en los mismos recipientes designados para los residuos radioactivos líquidos. Los frascos (viales) usados deben guardarse, sin vaciarlos, en las cajas porta-viales, las que se debe rotular con el nombre del radioisótopo que contienen, la composición química y física del cocktail de centelleo, fecha de llenado de la caja, actividad y procedencia. De este modo se facilita la decisión sobre su destino, ya sea como desecho químico o como desecho radiactivo si clasifica como tal. Use diferentes cajas para cada radioisótopo.

Para almacenar LOS RESIDUOS RADIATIVOS SÓLIDOS y los materiales secos que se sospeche que están contaminados, se debe usar recipientes rotulados para residuos radioactivos secos, y jamás en papeleras corrientes.

Los residuos sólidos deben almacenarse en recipientes separados de acuerdo al período de desintegración, muy corto (100 días) vs. largo (mayor que 100 días). También deben separarse por radionúclidos y naturaleza del material. No coloque objetos punzantes en los recipientes para residuos sólidos. Utilice una caja para eliminar pipetas y rotúlela debidamente. No mezclar materiales contaminados con los desechos de otro tipo que están destinados al incinerador del edificio o de su Unidad.

Nunca deje recipientes de desechos radioactivos secos o líquidos en los pasillos. Solicite a la Unidad de Gestión de Desechos Radioactivos de la C.Ch.E.N., para que evalúe la gestión de ellos como desecho radiactivo. El responsable del laboratorio debe disponer de un lugar adecuado y seguro para el ALMACENAMIENTO DE RESIDUOS RADIATIVOS en la Institución que los está generando.

El lugar de almacenamiento de la Institución debe ser autorizado por la Autoridad Competente para almacenaje transitorio de residuos radiactivos, y ser administrado por una persona capacitada para ello. Debe procurarse la mantención y señalización de este lugar, de modo que sea fácilmente reconocido; su acceso debe ser controlado y permanecer con llave; y, el personal usuario debidamente informado acerca del manejo de este lugar para evitar errores. Este lugar de almacenamiento debe permitir el control visual, con una sola mirada de todos los receptáculos allí almacenados, para detectar roturas y fugas de material contenido; los receptáculos deben estar debidamente rotulados, y mantener el registro de cada uno y su contenido, a objeto de realizar

periódicamente la gestión de ellos. Este lugar debe ser debidamente conocido por todos, con el objeto de evitar manipulación por extraños.

Está prohibido GUARDAR ALIMENTOS O BEBIDAS en refrigeradores, congeladores y cámaras frigoríficas donde se trabaja o se almacenan los materiales radioactivos.

LÁVESE CUIDADOSAMENTE LAS MANOS después de manipular radioisótopos, sobre todo antes de comer, fumar, o beber; antes de utilizar los cuartos de aseo; y cuando sospeche que se ha contaminado la piel.

MANTENGA UN REGISTRO de la recepción, el uso, la transferencia y la eliminación de los materiales radioactivos, utilizando para ello el libro de Registro de ingreso y egreso de materiales radioactivos.

EN CASO DE ACCIDENTE POR INHALACIÓN, INGESTIÓN, CONTAMINACIÓN DE LA PIEL, O DERRAMAMIENTO de materiales radioactivos, AVISE al CIB y a las autoridades competentes (Salud Ocupacional del Ministerio de Salud, o, a la Comisión Chilena de Energía Nuclear).

Si ocurre un accidente en presencia de materiales radioactivos, ATIENDA LAS HERIDAS GRAVES ANTES DE INTENTAR UNA DESCONTAMINACIÓN. ANTES DE USAR UN RADIOISÓTOPO POR PRIMERA VEZ, adquiera la información necesaria sobre la manipulación del mismo y su protección.

Toda persona que use radioisótopos y reciba notificación de presentarse para una verificación DEL TIROIDES, DE CUERPO ENTERO cuando sea posible efectuarlo, O UN ANÁLISIS DE ORINA, debe acudir, o corre el riesgo de sanciones que pueden ser especificadas en Normativas Institucionales o del país.

LA LIMPIEZA DE ÁREAS Y EQUIPOS CONTAMINADOS es de responsabilidad de las personas que producen la contaminación y del usuario autorizado designado. Esta limpieza no puede encargarse o delegarse a personal de fuera del laboratorio, como personal de limpieza o mantenimiento.

Almacene materiales radioactivos que necesitan refrigeración solamente en refrigeradores o congeladores convenientemente marcados para su almacenamiento. Además, si el refrigerador o congelador está localizado fuera del laboratorio (pasillos, etc.), la cantidad de actividad por muestra está limitada a niveles específicos para cada isótopo.

Medidas de protección durante el embarazo:

- ♦ El empleador o Jefe de Unidad debe tomar las medidas necesarias para reducir la exposición de una persona embarazada o en período de confirmación o descarte de embarazo, siendo el ideal que una vez

confirmado este diagnóstico la persona sea trasladada temporalmente a otras funciones, particularmente en los 3 primeros meses.

- ◆ Por su parte, la persona no debe ocultar su estado al Jefe respectivo, aún cuando ella decida asumir esa responsabilidad.
- ◆ Si se determina que el área de trabajo donde labora una persona embarazada, posee un nivel de radiación tal que el feto reciba 0.5 Rem o más antes de nacer, ella debe ser separada de inmediato de esas labores.
- ◆ En casos especiales, podría localizarse en áreas de menor radiación por tiempos más cortos, y a mayor distancia de la fuente de radiación.
- ◆ Estas medidas son tanto más necesarias durante los 3 primeros meses del embarazo, en los que el embrión es más sensible.
- ◆ Una persona en estas circunstancias debe ser claramente instruida por el Jefe de la Unidad sobre el riesgo de su embarazo.

El CIB debe vigilar el cumplimiento de las normas generales y propias de la Institución, la señalización de las áreas y material de trabajo, los programas de capacitación, y estar atento a eventuales accidentes que puedan ocurrir, así como del cumplimiento de lo dispuesto en el Decreto 03, sobre protección Radiológica (21).

12.5. Diseño de laboratorio y otras instalaciones

Las Instituciones, Servicios, o Unidades que manejen IR, deben ubicar en un sector de sus instalaciones un laboratorio de Radioisótopos, diseñado y equipado de acuerdo a la normativa (diseño, ventilación, pinturas, equipos, blindajes fijos y móviles, etc.) que permita a los investigadores, personal técnico y estudiantes, trabajar dentro del máximo nivel de seguridad.

La instalación donde se manipula el material radiactivo, debe tener barreras de seguridad física y biológica, de modo de impedir la liberación o emanación no controlada de material radiactivo.

13. Bioseguridad en el manejo de compuestos cancerígenos y/o genotóxicos, y/o con potencial teratogénico

13.1. Conceptos y definiciones

Numerosos compuestos químicos pueden inducir cáncer en los seres humanos en un período de meses a años, luego de la exposición a la sustancia cancerígena. Básicamente, corresponden a sustancias capaces de generar radicales libres u otras especies químicas altamente reactivas en los tejidos, los que eventualmente pueden dañar el ADN y en muchos casos, además, tienen potencial actividad mutagénica. Se denomina agente cancerígeno a cualquier agente físico, químico o biológico capaz de dar origen a un cáncer en el organismo. Se define como cáncer a un grupo de enfermedades que presentan como característica común la proliferación de células que escapan a las leyes de la homeostasis tisular y producen la formación de una masa tumoral. El desarrollo tecnológico de los últimos años ha llevado a un aumento en la producción de sustancias presentes en el mundo laboral, pero sus efectos tóxicos sobre la salud no han sido evaluados suficientemente.

La posibilidad de adquirir un cáncer por exposición a compuestos químicos cancerígenos es potencialmente grande. Los estudios epidemiológicos en los países desarrollados muestran que aproximadamente el 90% de los casos de cáncer son gatillados por factores ambientales.

Parece fácil resolver la situación de riesgo evitando la exposición a sustancias cancerígenas. El problema es saber qué compuestos son los que deben ser manejados en forma especial. En el caso de radioisótopos se sabe el tipo de emisión de cada isótopo y su cantidad, lo que permite tomar las medidas adecuadas. Sin embargo, en el caso de compuestos químicos no siempre existe la información suficiente para descartar un posible efecto cancerígeno.

La información de potencial carcinogénico para una determinada sustancia, se obtiene de tres fuentes principalmente:

- ◆ Pruebas de laboratorio (Test de Ames) que determinan mutagenicidad.
- ◆ Estudios en animales.
- ◆ Datos epidemiológicos.

Las pruebas de mutagenicidad solamente estudian el compuesto original, sin embargo, en la mayoría de los casos es la biotransformación de compuestos químicos en los individuos los que generan la sustancia activa. Esto implicaría la necesidad de probar no sólo el compuesto original sino todos los posibles intermediarios del metabolismo de xenobióticos. Además, no todos los compuestos carcinogénicos producen mutaciones. Las pruebas en animales de laboratorio subsanan en parte las deficiencias de las pruebas

in vitro. Para ello, es necesario hacer las pruebas en varias especies debido a los cambios cuali y cuantitativos en las enzimas biotransformantes. Estos estudios son muy caros y lentos, y en la práctica existen estudios de este tipo, solamente para un número muy reducido de compuestos químicos, principalmente los con potencial terapéutico. Los estudios epidemiológicos han servido para detectar y eliminar algunos inductores químicos, pero no tienen valor para evitar el uso de nuevos compuestos.

Una alternativa que ha permitido detectar varios carcinógenos en humanos es el estudio de la estructura, reactividad química y posibles vías metabólicas de nuevos compuestos químicos. En el Anexo 14 se presentan los principales grupos químicos asociados a carcinogénesis.

13.2. Normas para el uso de compuestos carcinogénicos y/o genotóxicos

El uso de sustancias carcinogénicas y/o genotóxicas debe evitarse al máximo y siempre que sea posible debe sustituirse por otra menos dañina. Sin embargo, existen numerosas ocasiones en las cuales deben usarse sustancias carcinogénicas y/o mutagénicas y, por lo tanto, deberán tomarse las medidas de seguridad necesarias considerando dos aspectos:

- A. Los investigadores y personal del Laboratorio.
- B. El ambiente y los individuos fuera del laboratorio.

Medidas de prevención

La medida ideal de prevención es no usar productos cancerígenos, reemplazándolos por otras sustancias siempre que sea posible. En los casos en que no sea indispensable el uso de compuestos con potencial carcinogénico y/o mutagénico deben tomarse las siguientes medidas:

- ♦ Contar con un riguroso plan preestablecido, el cual no debe ser modificado sin haber valorado las medidas de seguridad. El personal que desarrollará el experimento debe conocer todos los aspectos del plan y disponer de los materiales y equipos adecuados. El personal debe estar perfectamente informado de la naturaleza de los riesgos a corto y largo plazo.
- ♦ Disponer de las fichas toxicológicas de las sustancias que se manejan en el laboratorio, así como del significado de los datos contenidos y de las consecuencias de la exposición a los agentes cancerígenos.
- ♦ Rotular debidamente los reactivos carcinogénicos y guardarlos en recipientes cerrados herméticamente. Debe evitarse la adquisición de cantidades superiores a las que se vayan a utilizar. Las sustancias cancerígenas deben ser almacenadas en un lugar protegido donde sólo puedan acceder las personas autorizadas. Si la sustancia debe ser almacenada en un refrigerador o congelador debe colocarse un cartel en la puerta que advierta que se almacenan productos cancerígenos, y que no se debe guardar alimentos ni bebidas en ese lugar.

- ♦ En las áreas de trabajo con sustancias cancerígenas estará prohibido fumar, beber, comer, maquillarse y se deberá usar las protecciones adecuadas. El investigador debe usar guantes, mascarillas y delantal durante la manipulación de éstos.
- ♦ Los compuestos cancerígenos no deben tocarse directamente, ni siquiera utilizando guantes, se debe utilizar espátula o pinzas.
- ♦ No se debe pipetear con la boca sustancias cancerígenas, siendo recomendable dispositivos mecánicos y material desechable.
- ♦ Si es necesario pesar una sustancia cancerígena, se deben extremar las precauciones para evitar contaminar el área.
- ♦ No se debe trabajar con sustancias cancerígenas cuando se tienen heridas abiertas, ya que los productos pueden penetrar a través de ellas.
- ♦ Después de la manipulación se deben lavar las manos con los guantes puestos, vigilando de no contaminar las llaves innecesariamente, luego se sacan los guantes, y se lavan las manos con un detergente suave y abundante agua.
- ♦ El material de vidrio, plástico u otros utilizados en los experimentos con material cancerígeno, debe ser descontaminado y manejarse separadamente para su limpieza. Se debe tener de antemano un protocolo donde se explique claramente el procedimiento.
- ♦ El laboratorio debe tener estudiado el método de eliminación más adecuado para los materiales de desecho. El método debe ser diseñado de manera que no provoque la exposición del personal que debe retirar los residuos, ni la contaminación de los equipos utilizados. Se debe tener especial cuidado con la producción de aerosoles, por ejemplo en centrífugas.

Siempre que sea posible debe desnaturalizarse el compuesto de riesgo en los residuos sólidos y líquidos antes de su eliminación. También debe hacerse un lavado especial del material contaminado para desnaturalizar al tóxico.

Algunos ejemplos de descontaminación de material:

1) **Diaminobencidina:** El material y desecho se trata con hipoclorito de sodio antes del lavado o eliminación (Adams, J.C., Neurosci, 2:141, 1977).

2) **Bromuro de etidio:** Buffer conteniendo 0.5 g/ml. Agregar 2.9 g de Amberlita X-AD-16 por cada 100 ml de solución. Mantener a temperatura ambiente por 24 hrs., mezclando intermitentemente. Filtrar por Whatman 1, eliminar el filtrado, colocar el filtro y la resina en bolsa plástica y eliminar en un receptáculo destinado para desechar material de riesgo químico/biológico.

La Amberlita puede reemplazarse por carbón activado 100 mg/100 ml. La descontaminación de superficie se puede hacer mediante un lodo de Amberlita o carbón activado.

3) **Acrilamida** (30 – 40%): Observe las medidas generales de manejo (guantes-mascarillas). La solución stock se puede purificar agitándola una noche con 0.2 vol de resina monobead (MB-1) Mallinkrodt, seguida por filtración por Whatman 1.

Referencia: Molecular Cloning. A Lab. Manual. 2nd Ed. 1989 J.Sambrock, E.F.Fritsch and T.Maniatis Cold Spring Harbor Lab. Press. N.Y. págs. E.9 y G.39.

13.3. Bioseguridad en el manejo de compuestos con potencial teratogénico

(Teras = monstruo)

Teratógeno es un agente capaz de causar malformaciones del desarrollo. Los compuestos químicos pueden provocar malformaciones estructurales o morfológicas groseras de fácil reconocimiento o cambios funcionales de difícil detección.

La susceptibilidad a los agentes teratogénicos varía durante las distintas etapas de la gestación. El período de organogénesis es el estado más sensible a los agentes teratogénicos. En humanos, este período más crítico va desde aproximadamente la tercera semana de gestación hasta el tercer mes de embarazo. Luego de la organogénesis la probabilidad de malformaciones disminuye, sin embargo, la exposición a agentes químicos puede resultar en retardo de crecimiento fetal o de desarrollo del sistema nervioso.

También existe una diferente susceptibilidad de las especies a los efectos teratogénicos. Buen ejemplo de ello es el caso de la talidomida, droga que produce malformaciones solamente en el hombre y algunos primates. Sin embargo, las especies comúnmente usadas para estudiar el potencial teratogénico son ratones, ratas y conejos.

Los agentes teratogénicos generalmente producen su efecto en el feto a dosis totalmente inocuas para la madre. De hecho, experimentalmente se puede provocar malformaciones fácilmente sin dañar significativamente a la madre.

Sobre la base de lo anterior, resulta obvio que las mujeres embarazadas no deben exponerse a agentes teratogénicos. Sin embargo, el problema consiste en reconocer a tiempo el estado de embarazo. Como se mencionó antes, el riesgo de teratogénesis comienza aproximadamente a los 20 días de gestación (Ver Fig. 3). Por lo tanto, las

normas para el uso de sustancias químicas con potencial teratogénico o radiaciones deben ser tales que eviten la exposición a dichos agentes de todas las mujeres de edad fértil.

13.4. Normas para el uso de compuestos con potencial teratogénico.

Las medidas de prevención para trabajar con sustancias teratogénicas son esencialmente las mismas que para trabajar con productos cancerígenos o mutagénicos. Se debe tener especial cuidado en que el área de trabajo esté claramente establecida y en evitar la contaminación ambiental debido al efecto de estos productos sobre mujeres en edad fértil presentes en los laboratorios. Las mujeres en edad fértil deben tomar algunas medidas especiales.

- ♦ Tanto los investigadores como el personal de apoyo deben ser instruidos sobre los riesgos de la contaminación con reactivos teratogénicos, así como de las medidas para evitarlos.
- ♦ Los reactivos con potencial teratogénico deben guardarse sellados y MARCADOS claramente.
- ♦ Las mujeres en edad fértil deben tomar las precauciones especiales para el manejo de material de riesgo. Es decir, el uso de GUANTES, MASCARILLAS Y DELANTAL.
- ♦ Las mujeres embarazadas deben abstenerse de manipular reactivos conocidamente teratogénicos durante los primeros tres meses de gestación.
- ♦ Las mujeres embarazadas de más de tres meses podrán manipular reactivos teratogénicos siempre que sea indispensable y tomando las precauciones necesarias para no exponerse.
- ♦ La eliminación de los desechos debe hacerse en forma especial, usando dispositivos debidamente marcados al igual que con el material cancerígeno.

En el Anexo 14 se puede apreciar una lista de compuestos potencialmente teratogénicos en humanos, y otros para una o más especies de mamíferos.

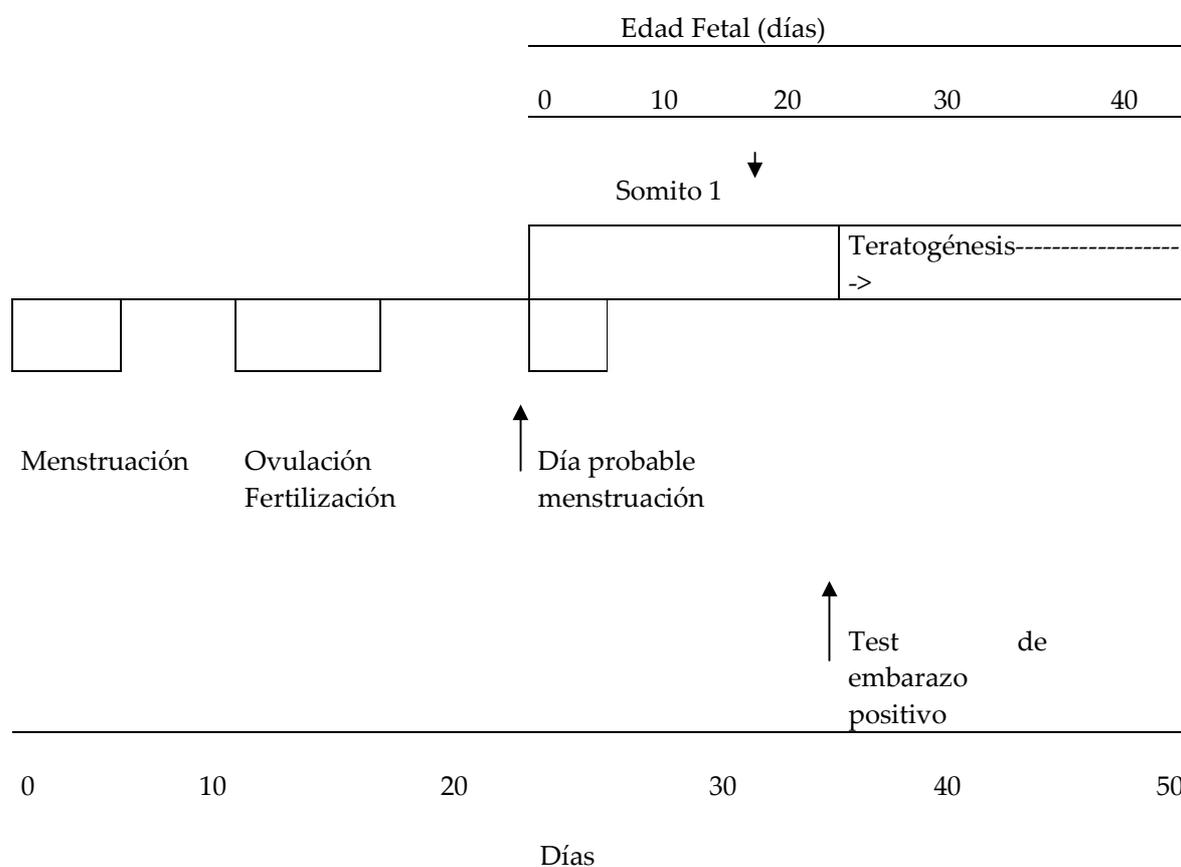


Figura 3. Relación entre susceptibilidad teratogénica y diagnóstico de embarazo. El diagrama representa un caso hipotético de un ciclo menstrual regular de 28 días. El embarazo será reconocido antes de los días de susceptibilidad teratogénica. Variabilidad en la ovulación podrá demorar el reconocimiento del embarazo más allá de los 20 días de desarrollo fetal.

De: "Principles of Drug Action: the basis of Pharmacology" por W. Pratt & P. Taylor (Churchill Livingstone Inc.) 3rd edition, p. 791, 1991.

14. Bioseguridad en el manejo de agentes químicos de riesgo

14.1. Generalidades

Muy pocos elementos tienen un uso tan amplio y generalizado como los agentes químicos, al extremo que podría decirse que no hay actividad de Investigación, Biotecnológica, Industrial, Hospitalaria, Agrícola, etc., donde ellos no sean utilizados ampliamente.

Es por esto que es imprescindible, a su vez, tener una clara idea de aquellos que constituyen un riesgo potencial, para la persona que los usa, para la comunidad inmediata o para el ambiente en general.

Por otra parte, aquellos que se clasifican como “Agentes de Riesgo”, presentan una amplia variedad de mecanismos por los cuales resulta peligrosa su manipulación.

Entre los mecanismos más frecuentes podemos distinguir:

- Inhalación
- Contacto
- Ingestión
- Jeringuillas
- Heridas en la piel

Estos factores deben ser considerados para desarrollar un conjunto efectivo de acciones protectoras.

Los accidentes con líquidos inflamables, materiales inestables, tóxicos, cáusticos, vapores tóxicos, etc., son relativamente frecuentes y configuran lo que podría denominarse en términos generales como “Accidentes”, “Exposición aguda” o “Toxicidad aguda”. La inmensa mayoría de los problemas generales en laboratorios con agentes químicos de riesgo caen dentro de este grupo (7,8).

Una segunda categoría son aquellos que ejercen su efecto tóxico o potencial de riesgo a través de una “exposición prolongada” o “crónica”, lo que es más frecuente en la industria (7,8), o en el uso de ellos en el ambiente (ej. insecticidas).

No podemos dejar de considerar el factor de riesgo producido por la contaminación ambiental con sustancias químicas. Como por ejemplo en ciertas regiones del país, la contaminación natural de aguas con arsénico, que por lo general determinan procesos de intoxicación prolongada o crónica, y que en la actualidad son materia de estudio de la Ecotoxicología (32). Todo este complejo problema ha generado, al igual que con los isótopos radioactivos, disposiciones legales que, en nuestro caso, están contenidas en el Código Sanitario.

La prevención de estos accidentes, enfermedades o su impacto sobre el desarrollo embrionario, es directa responsabilidad de los CIB a través de sus normativas, y como se ha insistido en varios capítulos, a través de un mantenido programa de capacitación y concientización sobre el problema. Finalmente, debemos hacer notar que este capítulo está estrechamente relacionado con el anterior (6).

14.2. Límites máximos permisibles

Es en los laboratorios de alto uso de técnicas químicas donde este concepto adquiere la mayor importancia, sin embargo, es aplicable también en muchos otros laboratorios en los que hay un importante uso de agentes químicos, aunque no preferente, pero si variados. Estos límites o valores máximos son los que definen cuándo un lugar de trabajo presenta un riesgo para una persona expuesta en relación al tiempo y concentración de determinada sustancia en el aire. Nuestra legislación, expresada en el Decreto Supremo N° 594 (1999) define estos límites como:

Límite Permisible Ponderado (LPP): “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”.

Límite Permisible Temporal (LPT): “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”.

Límite Permisible Absoluto (LPA): “Valor máximo permitido para las concentraciones ambientales de contaminantes químicos evaluada en cualquier instante de la jornada de trabajo”.

Por otra parte en la mayoría de los países hay organismos de Estado o internacionales que revisan y evalúan constantemente estos valores y hacen a la vez consultoría.

Los principales valores, identificados por su abreviación, son:

CAMP	= Cantidad ambiental máxima permisible
CMP	= Concentración máxima permisible ponderada en el tiempo.
AMP-CPT	= Concentración máxima permisible para cortos períodos de tiempo.
C (Ceil)	= Concentración máxima permisible (C); valor techo no superable en ningún momento
TWA	= Promedio del tiempo expuesto para un trabajo de 8 días y 40 hrs. semanales.
TLV	= Valores umbrales límites.
PEL	= Límite permisible de exposición.
Skin (Vía dérmica)	= Sustancia que tiene la posibilidad de ser absorbida en cantidades significativas por piel, mucosas u ojos.
Stel	= Límite de exposición breve. Por lo general, se estima no superior a 10-15 minutos, no más de 4 veces al día y con un lapso no menor a sesenta minutos entre uno y otro período.

14.3. Normas generales de trabajo en un laboratorio químico o con agentes químicos de riesgo

Las normas generales de prevención en estos casos, se basan en el conocimiento de la naturaleza y cantidad de las sustancias químicas involucradas.

En relación a la naturaleza de las sustancias químicas se debe como mínimo conocer un perfil básico en el que se incluyan los siguientes parámetros:

- ♦ Punto de inflamación. Menor temperatura a 1 atm de presión, a la que una sustancia combustible, desprende vapores que mezclados con el aire se inflama, en presencia de una fuente de ignición externa.
- ♦ Temperatura de autoignición. Menor temperatura a la cual un gas inflamable o mezcla aire-vapor enciende espontáneamente.

- ◆ Límite de inflamabilidad inferior (LII). Mínima concentración de gas o vapor (% por volumen en aire) que se quema o estalla si hay una fuente de inflamación presente a la temperatura ambiente. Los líquidos inflamables tienen una concentración de vapor mínima en el aire por debajo de la cual la propagación de llamas no ocurre al contacto con un origen de ignición.
- ◆ Límite de inflamabilidad superior (LIS). Concentración de una sustancia química en el aire que produce una explosión en un incendio o se inflama al contacto con una fuente de inflamación (alta temperatura, arco eléctrico, chispa o llama).
- ◆ Punto de ebullición.
- ◆ Densidad de vapor.
- ◆ Protección personal requerida en su manipulación.
- ◆ Recipientes adecuados.
- ◆ Normas de almacenamiento.
- ◆ Lucha contra el fuego.
- ◆ Normas acerca de vertidos y derrames.
- ◆ Primeros auxilios.
- ◆ Productos incompatibles, reacciones químicas peligrosas.

Se considera que existen riesgos potenciales cuando la naturaleza, cantidad y uso de sustancias químicas, equipos, aparatos e instrumentos, pueden producir:

- ◆ Concentración de vapores compuestos inflamables y/o combustibles, que superen en algún momento y en algún sector del laboratorio, el 10% del límite inferior de inflamabilidad LII, en presencia de una fuente de energía externa (foco de ignición).
- ◆ Contacto entre el laboratorista y sustancias activas fisiológicamente, o tóxicas, cuya concentración excede el Valor Límite Umbral de Exposición o Concentración Máxima Tolerable (mg/m³ de aire o p.p.m).
- ◆ Contacto entre el laboratorista y sustancias cáusticas, en cantidades que puedan producir daño.
- ◆ Contacto entre el laboratorista y radiaciones peligrosas.
- ◆ Reacción violenta o explosión.
- ◆ Daños no detectables por el laboratorista, asociados a manifestaciones crónicas (carcinogénesis, mutagénesis, teratogénesis).
- ◆ Daños a terceros, o sea, a trabajadores de otros sectores, o a la población y/o medio ambiente periférico.

Como regla general “debe considerarse potencialmente peligroso todo aquello que no sabe con certeza que no lo es”.

Como regla práctica “Pregúntese, ante cada nueva situación, si ya trabajó con las sustancias y/o equipos en cuestión”. “Si la respuesta es negativa, solicite información”.

14.4. Normas específicas para el manejo de agentes químicos de riesgo

a) Almacenamiento y transporte de sustancias químicas

- ♦ El laboratorio no debe ser un lugar de almacenamiento de sustancias químicas, sólo deben permanecer aquellas que serán usadas con mayor frecuencia y en volúmenes pequeños. Grandes volúmenes deben ser almacenados en lugares o edificios destinados especialmente para ese fin.
- ♦ La recepción, almacenamiento y distribución de sustancias químicas de alto riesgo (inflamables, reactivos, tóxicos), debe efectuarse en un lugar *ad hoc* que cumpla con los requisitos de aislamiento, ventilación y acceso controlado, y a cargo de personal técnicamente calificado.
- ♦ Dentro del recinto de bodega, se deben destinar áreas especiales para productos químicos sólidos, líquidos y gaseosos, tomando en consideración el riesgo que representan.
- ♦ Cada área debe estar equipada con estanterías metálicas, para almacenar los reactivos, de altura no superior a 2,5 mts, con una distancia del suelo mínima de 20 cms y separados a 60 cms de la pared. Las sustancias químicas deben almacenarse en sus envases unitarios originales, sellados y con sus etiquetas originales. Deben entregarse sellados al usuario y en ningún caso deben fraccionarse en la bodega.
- ♦ Cada Unidad debe mantener un listado actualizado de las sustancias químicas de riesgo que en ella se manipulan y las correspondientes fichas de Bioseguridad química. Donde se incluya los siguientes antecedentes: nombre comercial, fórmula química, compuesto activo, cantidad almacenada, tipo de riesgo más probable.
- ♦ El transporte de sustancias químicas desde la bodega a los laboratorios se debe efectuar en carros adecuados, tomando las precauciones necesarias para evitar el derrame de ellas.
- ♦ Las sustancias químicas de alto riesgo que ingresan a los laboratorios son de responsabilidad del personal técnico calificado, quien debe tomar las medidas anteriormente señaladas para su almacenamiento y uso.

- ♦ El personal que trabaje con sustancias químicas de alto riesgo debe protegerse con ropa, guantes, mascarillas, anteojos adecuados y según el elemento que se esté manipulando.

b) Uso de gabinete de seguridad química

El gabinete de seguridad química es un aparato con un sistema de extracción forzada que proporciona protección al operador del riesgo de ingestión, inhalación o contacto con la piel de sustancias que desprenden vapores, gases explosivos, inflamables, tóxicos, nocivos, corrosivos o irritantes.

De acuerdo con el agente de riesgo químico que se manipule, se distinguen los siguientes tipos de gabinetes:

Gabinete de seguridad química Clase A

Utilizado para el manejo de sustancias químicas con cantidad ambiental máxima permisible inferiores a 10 ppm. El aire de entrada en la abertura frontal tiene una velocidad de 38 a 46 metros lineales/minuto.

Gabinete de seguridad química Clase B

Utilizado para el manejo de sustancias químicas con cantidad ambiental máxima permisible de 10 a 1000 ppm. El aire de entrada en la abertura frontal tiene una velocidad mínima de 30 metros lineales/minuto.

Gabinete de seguridad química Clase C

Utilizado para el manejo de sustancias químicas con cantidad ambiental máxima permisible mayores de 1000 ppm. El aire de entrada en la abertura frontal tiene una velocidad de 25 metros lineales/minuto.

c) Manejo de residuos químicos

- ♦ No deben verterse en los desagües solventes no miscibles con el agua, ácidos y bases fuertes concentradas, inflamables o tóxicos. Tampoco deben verterse en los desagües sustancias que mezcladas con agua, con ácidos o con bases desprendan gases tóxicos o irritantes.
- ♦ Los solventes miscibles con el agua, previamente diluidos a lo menos al 1 x 10 y en volúmenes de no más de 0,5 litro cada vez, así como los ácidos y bases previamente diluidos a lo menos al 1 x 30, se pueden verter al desagüe, tomando las precauciones señaladas.
- ♦ El material contaminado con sustancias químicas de alto riesgo debe ser acopiado, temporalmente en el laboratorio, empleando envases adecuados ubicados en lugares especialmente destinados para ello. Se debe evitar la

acumulación excesiva de estos residuos a través de un programa de retiros periódicos.

- ◆ Todo envase que contenga residuos peligrosos debe estar correctamente etiquetado, indicando: el contenido, procedencia, nombre del responsable del residuo y fecha de inicio y final de llenado.
- ◆ Los solventes que no se pueden regenerar ni verter en el desagüe se deben neutralizar en un lugar adecuado, por personal técnicamente entrenado.
- ◆ La manipulación de sustancias que desprenden vapores, gases irritantes, de mal olor o la incineración de combustibles inflamables, debe realizarse sólo bajo campana de seguridad química.
- ◆ Se deben mantener para cualquier emergencia, neutralizantes tales como bicarbonato de sodio para los ácidos y ácido acético diluido para los álcalis.
- ◆ Aquellas sustancias químicas cuya identificación no sea la adecuada se deben analizar para establecer su conveniente forma de eliminación o su eventual utilización. Los productos que hayan perdido su calidad analítica original pueden utilizarse para otros fines (previo a un estudio analítico) o deben ser eliminados por personal técnicamente calificado.
- ◆ Cada Unidad debe mantener un listado actualizado de las sustancias químicas de riesgo que en ella se manipulan y las correspondientes fichas de Bioseguridad química.

El Anexo 17 contiene el listado de los Agentes Químicos de riesgo, según su incompatibilidad, grado de riesgo y precauciones aconsejables.

Referencias y links para consultas

- 1.- Richardson, J.H. and Barkley, W. Ed. 1988. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.
US. Dep. of Health and Human Services. Centre for Disease Control, Atlanta, Ga
National Institutes of Health, Bethesda, Md.
- 2.- Guías para el uso y la seguridad de las técnicas de Ingeniería Genética y Tecnología del ADN Recombinante.
Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Washington, D.C.
Organización Panamericana de la Salud, O.E.A., O.I.E. 1988.
- 3.- Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3º Ed. 2005
Organización Mundial de la Salud (OMS) Ginebra.
- 4.- Laboratory Safety Monograph. A Supplement to the NIH Guidelines for Recombinant DNA Reversal.
US. Dep. of Health Ed. and Welfare. National Institute of Health, Bethesda, Md.
- 5.- Procedures and Protocols for use of the P3 facility at the University of Illinois.
University of Illinois, Urbana. 1987.
- 6.- Richardson, J.H. and Robert, H. Huffaker: Biological Safety in the Clinical Laboratory. Chapter 96.
En manual of Clinical Microbiology, 3ª Ed.
E.H. Lennette, A.Balows, W.J. Hausler and J.P. Truant.
Am. Soc. Microbiol., Washington. 1980.
- 7.- Manual de Bioseguridad.
Instituto de Salud Pública de Chile. 2ª Ed. 1989.
Santiago, Chile.
- 8.- Bioseguridad en el laboratorio.
V Congreso Argentino de Microbiología. Simposio sobre Bioseguridad.
Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.
Suplemento N° 4. 1988. Buenos Aires, Argentina.
- 9.- Guía de métodos eficaces de Esterilización y Desinfección Intensivo contra el virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).
Serie OMS sobre Sida, N° 2. WHO. Ginebra. 1988.
- 10.- Quimby, E.H. and S. Feitelberg. 1963.
Radioactive Isotopes in Medicine and Biology. 2ª Ed.
Lea and Fabiger. Philadelphia.

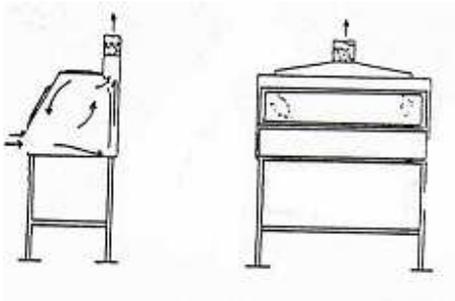
- 11.- Braestrup,C.B. and Vikterlöf, K.J. 1974.
Manual of Radiation Protection in Hospitals and General Practice.
Vol. 1, WHO. Geneva.
- 12.- Trigo, E.J. and Walter, J. 1990.
Biosafety regulation in developing countries.
UNIDO. Genetic Eng. Biotech.Monitor 30:46-52.
- 13.- IAEA. Radiation Protection Procedures. Safety Series Nº 38.
Vienna, IAEA, 1973. p. 145, 148, 151.
- 14.- Pike, Robert M. 1979. Laboratory-Associated Infectious:
Incidence, Fatalities, Causes and Preventions.
Ann. Rev.Microbiol. 33:41-66.
- 15.- The National Institutes of Health Radiation Safety Guide.
US. Dep. of Health Education and Welfare.
National Institutes of Health. Nº (NIH) 79-18.
Bethesda, Maryland. 1979.
- 16.- Reglamento de licencias a entidades civiles para desarrollar actividades
relacionadas con materiales fértiles, fisionables y fuentes generadoras de
radiaciones ionizantes.
Decreto 323. M.E.F. y R. 13.97.1974. Santiago.
- 17.- Decreto 323. 18 de Julio de 1974.
- 18.- Reglamento 133, Reglamento para instalaciones radiactivas 23, Agosto de 1984.
- 19.- Ley # 18.302, 2 de Mayo de 1984. Seguridad Nuclear.
- 20.- Decreto 12/85, 10 de Junio de 1985. Transporte seguro de materiales radioactivos.
- 21.- Decreto 03, 3 de Enero de 1985. Protección radiológica de instalaciones
radioactivas.
- 22.- Decreto 87, 24 de Diciembre de 1984. Protección física de las instalaciones y de los
materiales nucleares
- 23.- Safety Serie # 38. Radiation protection procedures.
I.A.E.A. Viena. 1973.
- 24.- Safety Serie # 47. Manual of Medical Treatment of Possible Radiation Injury.
I.E.A.E. Viena. 1978.

- 25.- Basic Safety Standards for Radiation Protection.
I.A.E.A. Safety Serie N° 9. Viena. 1982.
- 26.- Design of an equipment for Hot Laboratories.
Proc. Of a Symp. Oyaniemi. 2-6 Aug 1976.
I.A.E.A. Vienna. 1976.
- 27.- Radiation Safety in the Laboratory.
US. Dep. Health and Human Services.
National Institutes of Health. Division of Safety.
Radiation Safety Branch.
Bethesda, Maryland. 1990.
- 28.- González, E.P. 1988. Protección contra Radiaciones Ionizantes en Hospitales.
Rev. Med., de Chile 116:174-179.
- 29.- Guide For Laboratory, Animal Facilities and Care Superintendent of Documents
U.S. Government Printing Office.
Washington, D.C. 20402.
- 30.- Laboratory Animal Care: Am. Ass. For Lab. Animal Sc. Inc.
Juliet, III. 60434.
- 31.- Harris, R.J.C. The Problem of Laboratory Animal Diseases.
Acad. Press, N.Y.
- 32.- Hunter, W.J. and Smeets, G.P.M. Ed. 1976.
The evaluation of toxicological data for the protection of Public Health.
Proc. Int.Coll. Luxemburg. Dec. 1976.
Pergamin Press, Oxford.
- 33.- Environmental and Occupational Medicine. Editado por William, N. Rom. Little,
Brown and Company, Boston. 1983.
- 34.- Safety & Laboratory Practice. M.D. Hawkins. 3ª edición.
Cassell Publishers Lrd., Londres. 1988.
- 35.- Principles of Drug Action: the Basis of Pharmacology.
Editado por William Pratt y Palmer Taylor. Churchill Livingstone Inc., 3ª Edición.
1991.
- 36.- Jaffé, W.R. y Zaldívar, M.E. 1992. La regulación de la Biotecnología con énfasis en
la liberación al medio ambiente de organismos modificados genéticamente. IICA.
Programa II: Generación y Transformación de Tecnología. San José, Costa Rica.

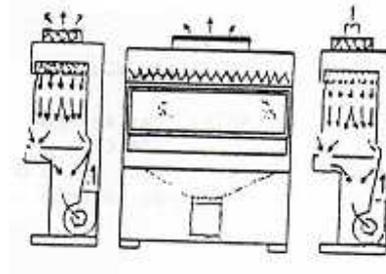
- 37.- Informe del Taller sobre Código de Conducta en Biotecnología Vegetal. 1991. Oficina Regional de la FAO para América Latina y El Caribe. Santiago, Chile.
- 38.- Kirsop, B.E. and Krichevsky, M.I. 1991. Needs and Specifications for an Information Resource for the Release of Organisms into the Environment (IRRO). United Nations Environment Programme. Proceedings of a UNEP/MSDN Workshop held in Vienna, Austria, and Rockville, MD. U.S.A.
- 39.- The National Institutes of Health. Radiation Safety Guides. US. Dep. of Health, Ed. And Welfare. Radiation Safety Branch. Bethesda, MD. 1988.
- 40.- The Scientific Advisory Committee on Genetic Modification (SACGM) Compendium of guidance. Part 4: Genetic modification work that involves plants (including plant-associated genetically modified microorganisms), 2007, Health and Safety Executive, UK. Disponible en: www.hse.gov.uk/biosafety/gmo/acgm/acgmcomp

Parte IV. Anexos

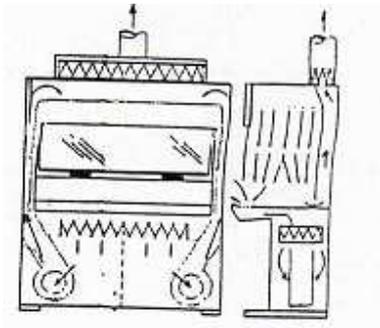
ANEXO 1. GABINETES DE BIOSEGURIDAD BIOLÓGICA



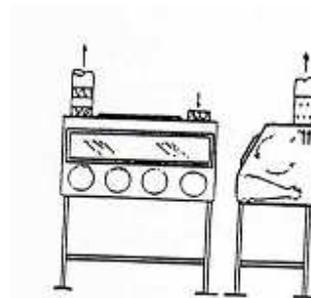
CLASE I



CLASE II TIPO A

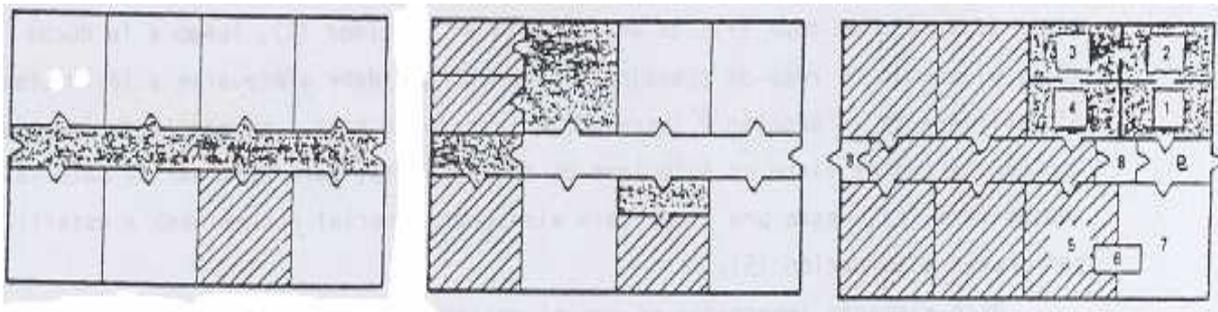


CLASE II TIPO B



CLASE III

ANEXO 2. DISEÑOS PARA LA INSTALACION DE UNO O MAS LABORATORIOS, DENTRO DE UNA UNIDAD, CON NIVELES DE BIOSEGURIDAD 3 O 4



A

B

C

- A: Diseño elemental de un módulo incluido en una Unidad de varios laboratorios, en los que se trabaja material que no requiere medidas de contención. En este diseño hay un corredor común para el acceso al módulo de contención, el cual debe ser controlado y restringido. El movimiento del aire debe efectuarse de la zona de menor riesgo a la de mayor riesgo. El aire puede reincubarse si se filtra por filtros HEPA. El aire puede eliminarse al exterior sin previa filtración, y no debe, en todo caso, eliminarse cerca de otros edificios o accesos de aire fresco.

El módulo debe tener suficiente espacio para incluir un gabinete de Bioseguridad, el aire de éste, puede ser eliminado al módulo previa filtración.

Las superficies murales y pisos no deben ser permeables a líquidos y deben ser de fácil limpieza. Las ventanas deben estar selladas. Todas las uniones de paneles o tubería que entra o sale, también deben estar selladas.

Debe tener un lavatorio de manos. La puerta debe cerrar automáticamente. Puede incluir un Autoclave interior, pero no es imprescindible. Debe contar con aparatos cerrados para eliminar basura o material contaminado.

- B: El diseño B tiene iguales especificaciones que el A, salvo que el o los módulos están mejor aislados y hay mejor control del acceso mediante antecámaras.
- C: El diseño C representa el Laboratorio de máxima contención, incluso este diseño podría ser motivo de un edificio propio sólo para el manejo de material y experimentos de alto riesgo, y comprende las siguientes disposiciones de trabajo.

El personal entra por una puerta (e) que conecta un corto corredor con la pieza de cambio de ropa (1), de ahí se pasa al vestidor (2), luego a la ducha (3) y al cambio de ropa de trabajo (4), camino que debe efectuarse a la inversa al retirarse de la sección. Ingresado en esa forma pasa a su módulo de trabajo, uno de los cuales tiene un Autoclave de doble puerta, para eliminar el material contaminado (6), desde una pieza para almacenar material contaminado a esterilizar previa eliminación (5).

Otro elemento importante es que el corredor de acceso, sólo debe usarse para el ingreso de material o equipos, lo cual debe efectuarse a través de una antecámara (8).

Debe tener un sistema de ventilación propio con presión negativa y flujo controlado dentro de la unidad. El aire debe ser filtrado a través de filtros HEPA y descontaminado antes de ser eliminado al exterior.

Las puertas que controlan la antecámara deben estar sincronizadas eléctricamente, para que se mantenga la presión diferencial.

Todos los líquidos deben ser descontaminados antes de ser eliminados, o bien esterilizados al Autoclave. Los líquidos de las duchas deben ser descontaminados antes de ser eliminados.

Los líquidos de la sección toilette y lavatorios de la sala de reposo, pueden ser eliminados directamente.

Se contempla además, una pieza de tránsito y salida de material esterilizado (7).

Nota 1 : Los módulos achurados son los destinados a trabajo con material de riesgo.

2 : Adaptado del "Laboratory Safety Monograph", U.S. Department of Health Education and Welfare, Public Health Service, National Institutes of Health.

**ANEXO 3. CLASIFICACION BACTERIANA DE ACUERDO CON SU
POTENCIAL RIESGO PARA UNA PERSONA O EL AMBIENTE EN
RELACION CON EL NIVEL DE BIOSEGURIDAD¹²**

A. BACTERIAS DE RIESGO MINIMO O NULO: Nivel de BS-1. Clase 1 (2)

- 1) Photobacterias
Familias: *Rhodospirillales*
Chromatiaceae
Chlorobiaceae
- 2) Familia *Beggiatoaceae*
- 3) Género *Caulobacter*
- 4) Género *Prosthecomicrobium*
- 5) Género *Bdellovibrio*
- 6) Familia *Azotobacteraceae*
- 7) Familia *Halobacteriaceae*
- 8) Género *Desulfovibrio*
- 9) Familia *Nitrobacteraceae*
- 10) Género *Thiobacillus*
- 11) Género *Sulfolobus*
- 12) Género *Thiobacterium*
- 13) Familia *Methanobacteriaceae*
- 14) Familia *Micrococcaceae*
- 15) Género *Cellulomonas*
- 16) Género *Propionibacteriaceae*
- 17) Género *Corynebacterium* (excepto *C. diphtheriae*)
- 18) Familia *Lactobacillaceae*
- 19) Género *Desulfotomaculum*
- 20) Familia *Frankiaceae*

¹² NOTA: La incorporación a estos listados de bacterias no patógenas para el hombre (Nivel de BS-1) es por el uso que de ellas se hace actualmente en laboratorios de investigación e industriales, lo que hace necesario definir su ubicación desde el punto de vista de bioseguridad.

B. BACTERIAS DE RIESGO INTERMEDIO: Nivel de BS-2. Clase 2 (2)

- 1) Familia *Pseudomonadaceae*
- 2) Familia *Enterobacteriaceae*
- 3) Familia *Vibrionaceae*
- 4) Género *Staphylococcus*
- 5) Familia *Streptococaceae*. Género *Streptococcus*
- 6) Bacterias no fermentadoras y Oportunistas patógenas
 - Género *Alcaligenes*
 - Género *Aerobacter*
 - Género *Francisella*
 - Género *Chromobacterium*
 - Género *Flavobacterium*
 - Género *Pasteurella*
 - Género *Actinobacillus*
 - Género *Cardiobacterium*
 - Género *Branhamella*
 - Género *Moraxella*
 - Género *Acinetobacter*
 - Género *Kingella*
 - Género *Achromobacter*
 - Género *Eikenella*
 - Género *Capnocytophaga*
 - Género *Aeromonas*
 - Género *Plesiomonas*
- 7) Familia *Bacillaceae*. Género *Bacillus*.
Excepto especie *anthracis* (Ver 6).
- 8) Familia *Rhizobiaceae*

C. BACTERIAS DE RIESGO ALTO. Niveles de BS-3 y 4. Clases 3 y 4 (2).

- 1) Género *Leptothrix*
- 2) Familia *Spirochaetaceae*
- 3) Familia *Bacteroidaceae*
- 4) Familia *Neisseriaceae*
- 5) Familia *Veillonellaceae*
- 6) Género *Bacillus*. Especie *anthracis*
- 7) Género *Clostridium*
- 8) Género *Listeria*
- 9) Género *Erysipelothrix*
- 10) Género *Corynebacterium*. Especie *diphtheriae*
- 11) Familia *Mycobacteriaceae*
- 12) Género *Nocardia*
- 13) Familia *Rickettsiaceae*
- 14) Familia *Chlamydiaceae*
- 15) Familia *Mycoplasmataceae*
- 16) Género *Yersinia*. Especie *pestis*
- 17) Género *Peptococcus*
- 18) Género *Streptobacillus*. Especie *moniliformis*
- 19) Género *Haemophilus*
- 20) Familia *Actinomycetaceae*
- 21) Género *Gardnerella*
- 22) Género *Bordetella*
- 23) Género *Brucella*
- 24) Género *Fusobacterium*

D. BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE OTROS PATOGENOS

- a) HONGOS PATOGENOS DE INTERES EN CHILE
 - 1.- *Cryptococcus neoformans* (Nivel de BS-3)
 - 2.- *Histoplasma capsulatum* (Nivel de BS-3)

- 3.- *Sporotrix schenckii* (Nivel de BS-2)
- 4.- *Epidermophyton, Microsporum, Trichophyton* (Nivel de BS-2)
- 5.- *Candida* (Nivel de BS-2)

b) HONGOS OPORTUNISTAS

- 1.- *Aspergillus* (Nivel de BS-2)
- 2.- *Penicillium* (Nivel de BS-2)
- 3.- *Phycomycetes* (Nivel de BS-2)

c) PRINCIPALES PROTOZOOS DE INTERES EN CHILE. Nivel de BS-2

- 1.- *Entamoeba histolítica*
- 2.- *Pneumocystis carini*
- 3.- *Toxoplasma*
- 4.- *Tripanosomas*
- 5.- *Plasmodios*
- 6.- *Giardia*
- 7.- *Coccidia*

ANEXO 4. CLASIFICACION DE MICROORGANISMOS DE INTERES EN FITOPATOLOGIA DE ACUERDO CON SU POTENCIAL RIESGO PARA UNA PERSONA O PARA EL AMBIENTE

Ningún microorganismo considerado como patógeno de plantas debería trabajarse en un laboratorio de nivel de BS-1, fundamentalmente por el daño que puede causar su diseminación en el medio ambiente.

A: NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2 EN EL MANEJO DE PATOGENOS DE PLANTAS

Reino Monera

División Bacterias

Familia *Pseudomonaceae*

Género *Pseudomonas*

Género *Xanthomas*

Familia *Rhizobiaceae*

Género *Rhizobium*

Género *Bradyrhizobium*

Género *Agrobacterium*

Género *Phyllobacterium*

Familia *Enterobacteriaceae*

Género *Erwinia*

Familia *Streptomycetaceae*

Género *Streptomyces*

Familia *Actynomicetaceae*

Género *Actynomyces*

Grupo *Corineforme*

Género *Clavibacter*

Género *Arthrobacter*

Género *Curtobacterium*

Género *Corynebacteria*
Familia *Bacillaceae*
Género *Bacillus*
Género *Clostridium*

Bacterias Gram-negativas limitadas al floema, relacionadas con las enfermedades de las plantas.

Bacterias Gram-positivas limitadas al xilema, relacionadas con las enfermedades de las plantas.

Y todas las demás bacterias relacionadas con las enfermedades de las plantas y los insectos.

Clase *Mollicutes*
Orden *Mycoplasmatales*
Familia *Spiroplasmataceae*
Género *Spiroplasma*

Organismos parecidos a micoplasmas relacionados con las enfermedades de las plantas.

Viroides

Superreino *Prokaryotae*

Reino Virus

Todos los pertenecientes a grupos que contienen virus de plantas (tanto ARN como ADN y todos los demás virus de plantas e insectos).

B: NIVEL DE BIOSEGURIDAD 3 EN EL MANEJO DE PATOGENOS DE PLANTAS

División *Eumycota*

Clase *Ficomycetes*

Subclase *Quitridiomycetes*

Familia *Synchytriaceae*

Género *Synchytrium*

Subclase *Plasmodiophoromycetes*

Orden *Plasmodiophorales*

Familia *Plasmodiophoraceae*

Género *Plasmodiophora*

Género *Spongospora*

Familia *Cladochytriaceae*

Género *Urophlystis*

Género *Physoderma*

Subclase *Oomycetes*

Orden *Peronosporales*

Familia *Pitaceae*

Género *Pythium*

Género *Phytophthora*

Familia *Albuginaceae*

Género *Albugo*

Familia *Peronosporaceae*

Género *Sclerospora*

Género *Plasmopara*

Género *Bremia*

Género *Peronospora*

Subclase *Zigomicetes*

Orden *Mucorales*

Familia *Mucoraceae*

Género *Rhizopus*

Clase *Ascomycetes*

Subclase *Hemiascomycetidas*

Orden *Tafrinales*

Familia *Tafrinaceae*

Género *Taphrina*

Subclase *Euscomycetidas*

Orden *Erisifales*

Familia *Erisifaceae*

Género *Sphaerotheca*

Género *Podosphaera*

Género *Erysiphe*

Género *Phyllactinia*

Género *Mycrosphaera*

Género *Uncinula*

Orden *Meliolales*

Familia *Meliolaceae*

Género *Meliola*

Orden *Clavicipitales*

Familia *Clavicipitaceae*

Género *Claviceps*

Orden *Esferiales*

Familia *Esferiaceae*

Género *Rosellinia*

Familia *Fillacoraceae*

Género *Phyllachora*

Orden *Diaportales*

Familia *Diaportaceae*

Género *Glomerella*

Género *Diaporthe*

Familia *Gnomoniaceae*

Género *Linocarpon*

Orden *Hipocreales*

Familia *Nectriaceae*

Género *Nectria*

Género *Gibberella*

Orden *Heliales*

Familia *Facidiaceae*

Género *Pseudopeziza*

Familia *Esclerotiniaceae*

Género *Sclerotinia*

Género *Monilinia*

Subclase *Loculoascomycetidas*

Orden *Mirringiales*

Familia *Elsinoaceae*

Género *Elsinoe*

Orden *Pleosporales*

Familia *Venturiaceae*

Género *Venturia*

Familia *Pleoporaceae*

Género *Pyrenophora*

Orden *Dotiales*

Familia *Micosferellaceae*

Género *Mycosphaerella*

Familia *Capnodiaceae*

Género *Capnodium*

Género *Limacinia*

Clase *Deuteromycetes*

Orden *Esferopsidales*

Familia *Esferodiaceae*Género *Phyllosticta*Género *Phoma*Género *Phomopsis*Género *Sphaeropsis*Género *Coniothyrium*Género *Ascochyta*Género *Diplodia*Género *Septoria*Familia *Leptostromasia*Género *Leptothyrium*Orden *Melanconiales*Familia *Melanconiaceae*Género *Colletotrichum*Género *Coryneum*Género *Sphaceloma*Orden *Moliniales*Familia *Molineaceae*Género *Oidium*Género *Monilia*Género *Asperfillus*Género *Penicillium*Género *Verticillium*Género *Botrytis*Género *Rhynchosporium*Género *Piricularia*Familia *Demaciaceae*Género *Fusicladium*Género *Alternaria*Género *Dreschlera (Helminthosporium)*

Género *Cercospora*

Familia *Estilbellaceae*

Género *Isariopsis*

Género *Graphium*

Familia *Tubercularaceae*

Género *Fusarium*

Orden Micelio Estéril

Género *Rhizoctonia*

Género *Sclerotium*

Clase *Basidiomycetes*

Subclase *Heterobasidiomycetidas*

Orden *Tremellales*

Familia *Tremellaceae*

Género *Helicobasidium*

Orden *Uredinales*

Familia *Pucciniaceae*

Género *Puccinia*

Familia *Melanpsoraceae*

Género *Melampsora*

Orden *Ustilaginales*

Familia *Ustilaginaceae*

Género *Ustilago*

Familia *Tilletaceae*

Género *Tilletia*

Orden *Exobasidiales*

Familia *Exobasidiaceae*

Género *Exobasidium*

Subclase *Homobasidiomycetidas*

Orden *Poliporales*

Familia *Poliporaceae*

Género *Fomes*

Género *Polyporus*

Género *Poria*

Familia *Agariraceae*

Género *Schizophyllum*

Género *Armillaria*

Familia *Teleforaceae*

Género *Pellicularia*

Género *Corticium*

Género *Stereum*

Orden *Gasteromicetes*

Género *Licoperdum*

Género *Calvetia*

Y todos los demás hongos relacionados con las enfermedades de las plantas o los insectos.

División *Myxomycota*

Clase *Plasmodiophoromycetes*

**ANEXO 5. CLASIFICACION DE RADIOISOTOPOS DE ACUERDO A SU
RELATIVA RADIOTOXICIDAD¹³**

Grupo 1¹⁴

210Pb	210Po	223Ra	226Ra	228Ra	221Ac	227Th	228Th	230Th
231Pa	230U	232U	233U	234U	231Np	238Pu	239Pu	240Pu
241Pu	242Pu	241Am	243Am	242Cm	243Cm	244Cm	245Cm	246Cm
249Cf	250Cf	252Cf						

Grupo 2

22Na	36Cl	45Ca	46Sc	54Mn	56Co	60Co	89Sr	90Sr
91Y	95Zr	106Ru	110Ag ^m	115Cd ^m	114In ^m	124Sb	125Sb	127Te ^m
129Te ^m	124I	126I	131I	133I	134Cs	137Cs	140Ba	144Ce
152Eu(13y)		154Eu	160Tb	170Tm	181Hf	182Ta	192Ir	204Tl
207Bi	210Bi	211At	212Pb	224Ra	228Ac	230Pa	234Th	236U
249Bk								

Grupo 3

7Be	14C	18F	24Na	38Cl	31Si	32P	35S	41A
42K	43K	47Ca	41Sc	48Sc	48V	51Cr	52Mn	56Mn
52Fe	55Fe	59Fe	51Co	58Co	63Ni	65Ni	64Cu	65Zn
69Zn ^m	72Ga	73As	74As	76As	77As	75Se	82Br	85Kr ^m
87Kr	86Rb	85Sr	91Sr	90Y	92Y	93Y	97Zr	93Nb ^m
95Nb	99Mo	96Tc	91Tc ^m	97Tc	99Tc	97Ru	103Ru	105Ru
105Rh	103Pd	109Pd	105Ag	111Ag	109Cd	115Cd	115In ^m	113Sn
125Sn	122Sb	125Te ^m	127Te	129Te	131Te ^m	132Te	130I	132I
134I	135I	135Xe	131Cs	136Cs	131Ba	140La	141Ce	143Ce
142Pr	143Pr	147Nd	149Nd	147Pm	149Pm	151Sm	153Sm	152Eu ^m (9)
155Eu	153Gd	159Gd	165Dy	166Dy	166Ho	169Er	171Er	
171Tm	175Yb	177Lu	181W	185W	187W	183Re	186Re	188Re
185Os	191Os	193Os	190Ir	194Ir	191Pt	193Pt	197Pt	196Au
198Au	199Au	197Hg	197Hg ^m	203Hg	200Ti	201Tl	202Tl	203Pb
206Bi	212Bi	220Rn	222Rn	231Th	233Pa	239Np		

Grupo 4

3H	15O	37A	58Co ^m	59Ni	69Zn	71Ge	85Kr	85Sr ^m
87Rb	91Y ^m	93Zr	97Nb	96Tc ^m	99Tc ^m	103Rh ^m	113In ^m	129I
131Xe ^m	133Xe	134Cs ^m	135Cs	147Sm	187Re	191Os ^m	193Pt ^m	197Pt ^m
232Th	Th-Nat	235U	236U	U-Nat				

¹³ Adaptado de: Safety Serie N°38, IAEA, Viena, 1973.

¹⁴ Grupo 1.- Muy alta toxicidad; Grupo 2.- Toxicidad media-alta; Grupo 3.- Moderada toxicidad. Grupo 4.- Toxicidad baja.

**ANEXO 6. PRINCIPALES PROPIEDADES Y MEDIDAS DE PROTECCION PARA
ALGUNOS RADIONUCLIDOS DE USO COMUN EN INVESTIGACION**

RADIOISOTOPOS	VIDA MEDIA	TIPO DE EMISION	ENERGIA MAXIMA DE EMISION	METODO DE MONITOREO DIARIO	DOSIMETRO PERSONAL	BLINDAJE DE PROTECCION REQUERIDO
TRITIO (H-3)	12 años	Beta	0.018 MeV	Frotis		Ninguno
CARBONO-14 (C-14)	5.730 años	Beta	0.156 MeV	Frotis	Según lo disponga	Ninguno
AZUFRE (S-35)	87,9 días	Beta	0.167 MeV	Frotis	la autoridad competente	Ninguno
FOSFORO-32 (P-32)	14 días	Beta	1.710 MeV	Contador Geiger-Müller		Acrílico (1)
iodo-125 (I-125)	60,2 días	Gamma	0.035 MeV	Centelleador Para NaI		Plomo (2-3)

(1): Blindaje de Acrílico recomendado, grosor de 10 mm.

(2): Blindaje de Plomo recomendado, grosor de 0,5 – 1 mm

(3): “HVL” (Half Value Layer) de Plomo, espesor necesario para reducir a la mitad el valor original = 0.00185 cm.

REF.: Radiation Safety in the Laboratory. National Institutes of Health. Radiation Safety Branch. Washington, D.C.

ANEXO 7. ALGUNAS PROPIEDADES SELECCIONADAS DE RADIOMUCLIDOS DE INTERES BIOLÓGICO EN INVESTIGACION (NIH/USA 1991)¹⁵

Núclido	Energía Beta Máxima (MeV)	Energía Gamma (MeV)	Igamma mR/Hr/mCi (a 1 mt)	Organo Crítico	Vida Media	
					Física	Biológica
³ H	0.0186	-	-	Tejidos Corporales	12.26 (años)	10 (días)
¹⁴ C	0.156	-	-	Grasa Corporal	5730 (años)	0.4 (días)
³² P	1.710	-	-	Hueso	14.30 (días)	1155 (días)
¹²⁵ I	-	28 KeV Promedio	0.07	Tiroides	60.2	0.35/138 ¹⁶
³⁵ S	0.167	-	-	Testículo Cuerpo Entero	87.9 (días)	7 (días)

MeV = Mega electron Volt (10^6 eV).

KeV = Kilo electron Volt (10^3 eV).

** Internat. Comm. on Radiol. Protec. ICRP. Publ. N° 10. Pergamon Press, Oxford, England. 1968.

¹⁵ Manual on Early Medical Treatment of Possible Radiation Injury. Safety Series N° 47. IAEA. Viena. 1978. (En esta Referencia de la Biblioteca de la C.C.H.E.N., La Reina, pueden consultarse los valores correspondientes a otros elementos).

¹⁶ Internat. Comm. on Radiol. Protec. ICRP. Publ. N° 10. Pergamon Press, Oxford, England. 1968.

ANEXO 8. CARACTERÍSTICAS DEL H³

Tipo de Radiación	Energía de Emisión	Intensidad	Alcance		Penetrabilidad
			Aire	Tejidos	
Beta	18.6 Kev. (max)	100 %	0.610	0.0006	Insignif.

Fisiología del Núclido Libre

Destino Biológico _____ Cuerpo total

Tipo de Bioensayo _____ Orina

Dosis Comprometida a Cuerpo Entero

(por microcurie de Carga Corporal) 0.06 m Rem

Dosis Comprometida Eficaz

por uCi ingerido 0.09 mRem

por uCi inhalado 0.13 mRem

Vida Media

Radiológica _____ 12.28 años

Biológica _____ 10 días

Efectiva _____ 10 días

Dosis Absorbida

Fracción transmitida por capa cornea de piel _____ 0%

Irradiación a Células basales por contaminación de piel
(a una densidad de 1 uCi por cm³).

0 mRads/Hr

Control de Exposición (INFORMACION MINIMA!)

Volatibilidad inherente (TPE) importante

Blindaje de protección no se necesita

Instrumentos de evaluación ninguno que sea práctico

Método de Aseo de superficie contaminada aseo con detergente

Dosimetría personal Lo que indique la autoridad competente.

Clasificación Lo que indique la autoridad competente.

ANEXO 9. CARACTERÍSTICAS DEL C¹⁴

Tipo de Radiación	Energía de Emisión	Intensidad	Alcance		Penetrabilidad
			Aire	Tejidos Cms	
Beta	156 MeV (max)	100 %	30.5	0,03	escasa

Fisiología del Núclido Libre

Destino Biológico _____ Tejido adiposo

Tipo de Bioensayo _____ Orina

Dosis Comprometida a Cuerpo Entero 2.07 mRem (tejido adiposo)
(por microcurie de Carga Corporal)

Dosis Comprometida Eficaz

por uCi ingerido 1.54 mRem

por uCi inhalado

Vida Media

Radiológica _____ 5730 años

Biológica _____ 40 días

Efectiva _____ 40 días

Dosis Absorbida

Fracción transmitida por capa cornea de piel _____ 11%

Irradiación a Células basales por contaminación de piel 1400 mRads/Hr.
(a una densidad de 1 uCi por cm³).

Control de Exposición (INFORMACION MINIMA!)

Volatilidad inherente (TPE) no significativa

Blindaje de protección no se requiere

Instrumentos de evaluación Contador a gas proporcional – GM poco sensible

Método de Aseo de superficie contaminada aseo con detergente

Dosimetría personal Lo que indique la autoridad competente.

Clasificación Lo que indique la autoridad competente.

ANEXO 10. CARACTERÍSTICAS DEL P³²

Tipo de Radiación	Energía de Emisión	Intensidad	Alcance		Penetrabilidad
			Aire	Tejidos Cms	
Beta	1.710 MeV (max)	100 %	610	0.7	moderada

Fisiología del Núclido Libre

Destino Biológico _____ Tejido Oseo

Tipo de Bioensayo _____ Orina

Dosis Comprometida a Cuerpo Entero 32 mRem (Superficie Osea solamente)
(por microcurie de Carga Corporal)Dosis Comprometida Eficaz

por uCi ingerido 7.5 mRem

por uCi inhalado

Vida Media

Radiológica _____ 14.3 días

Biológica _____ 1500 días

Efectiva _____ 14.2 días

Dosis Absorbida Dosis de 1 cm de 1 mCi 200.000 mRads/Hr

Fracción transmitida por capa cornea de piel _____ 95%

Irradiación a Células basales por contaminación de piel
(a una densidad de 1 uCi por cm³). 9200 mRads/Hr.Control de Exposición (INFORMACION MINIMA!)

Volatibilidad inherente (TPE)	insignificante
Blindaje de protección	plástico, acrílico de 1 cm de espesor
Instrumentos de evaluación	contador Geiger Müller
Método de Aseo de superficie contaminada	agua y detergente
Dosimetría personal	Fotográfico o Termoluminiscencia
Clasificación	Lo que indique la autoridad competente.

ANEXO 11. CARACTERÍSTICAS DEL I¹²⁵

Tipo de Radiación	Energía de Emisión	Intensidad	Alcance		Penetrabilidad
			Aire	Tejidos cms	
Gama	35 KeV	7 %	Grosor de 50	Reducción	baja
Rayos X	27-31 KeV	138 %	% de con	radiación 0,02	baja
E. Conversión	4-30 KeV	- -	agua	cm	insignificante

Fisiología del Núclido Libre

Destino Biológico _____ Tiroides

Tipo de Bioensayo _____ Contar Tiroides

Dosis Comprometida a Cuerpo Entero

(por microcurie de Carga Corporal) 4153 mRem a Tiroides

Dosis Comprometida Eficaz

por uCi ingerido

por uCi inhalado

Vida Media

Radiológica _____ 60.2 días

Biológica _____ 120 días (Eliminación Tiroidea)

Efectiva _____ 40.1 días

Dosis Absorbida Dosis de Irradiación a 10 cm de 1 mCi 27.5 mRads/Hr

Fracción transmitida por capa cornea de piel _____ Insignificante

Irradiación a Células basales por contaminación de piel

(a una densidad de 1 uCi por cm³). nula

Control de Exposición (INFORMACION MINIMA!)

Volatilidad inherente (TPE)	importante especialmente a pH acido!
Blindaje de protección	Hoja de plomo (0.5 a 1 milímetro)
Instrumentos de evaluación	Centelleador de NaI con cubierta delgada (A1 o plástico)
Método de Aseo de superficie contaminada	Agua y detergente (más lugol)
Dosimetría personal	Fotográfica o Termoluminiscencia
Clasificación temporal de residuo.	Lo que indique la autoridad competente.

ANEXO 12. CALCULO APROXIMADO DE DOSIMETRIA PARA ALGUNOS RADIONUCLIDOS DE INTERES BIOLOGICO¹⁷

Partículas Beta:

- Se requieren Partículas Beta de por lo menos 70 KeV para atravesar la capa protectora de la piel (valor nominal de 7 mg/cm² ó 0.07 mm).
- La energía promedio de un espectro de rayos beta es aproximadamente un tercio de la Energía Máxima.
- El alcance de una partícula beta en el aire es aproximadamente 3.7 metros por MeV. (El alcance máximo del P³² en aire es aproximadamente 6 metros).
- La velocidad de irradiación en Rad/hora de un emisor beta en una solución puede aproximarse como 1.12 EC/P siendo

E = la energía promedio por desintegración tipo en MeV.

C = concentración en microcuries por centímetro cúbico.

P = densidad del medio en gramos por centímetro cúbico.

La irradiación en la superficie de la solución es la mitad del valor dado por dicha relación.

Para la energía promedio del P³² (0.07 MeV) la irradiación de una solución de 1 µCi por cm³ en agua es 1.48 Rads/hora.

- La velocidad de irradiación a través de la capa protectora de la piel (con un valor nominal de 7 gm/cm²), a partir del depósito uniforme de 1 µCi por cm³ es de alrededor de 9 Rad/hora para energías sobre 0.6 MeV. Note que en una capa delgada la irradiación beta excede en hasta 100 veces una irradiación gamma de igual energía promedio.
- Para una fuente puntual de emisor beta (sin considerar la absorción del aire y la autoabsorción), por cada mCi la irradiación a 1 cm de distancia es aproximadamente igual a 200 Rad /hora y varía muy poco con la energía de la radiación.
La irradiación por P³² a 1 cm y por cada mCi es de 200 Rads/hora aproximadamente.

Rayos Gamma:

- Para una fuente puntual gamma con energías entre 0.07 y 4 MeV, la irradiación (mR/hora) con una aproximación de un 20% a 30.8 cm es igual a:

¹⁷ Adaptado de la Referencia 38, pág. 22.

$$6 \times \text{mCi} \times E \times n$$

siendo

mCi = número de milicurios

E = energía en MeV

N = número de emisiones (energías) de las radiaciones gamma.

- b) La irradiación de un tejido en Rads/horas en un medio no limitado y uniformemente contaminado por un emisor gamma es igual a:

$$2.12 \text{ EC/P}$$

siendo

E = energía gamma promedio por desintegración en MeV

C = número de microcurios por centímetro cúbico

P = densidad del medio en gramos por centímetro cúbico

En la superficie de un cuerpo suficientemente grande la dosis es igual aproximadamente a la mitad de esta relación.

Miscelánea

- a) La actividad de cualquier radionúclido se reduce a menos del 1% después de transcurridas 7 vidas medias ($1^{-7} = 0.8\%$).
- b) Para cualquier radionúclido con una vida media mayor que seis días, el cambio en actividad en 24 horas será menor de un 10%.

ANEXO 13. COMPUESTOS CARCINOGENICOS

A.- GRUPOS PRINCIPALES DE CARCINOGENICOS QUIMICOS

Hidrocarburos aromáticos policíclicos
Metabolitos de aminas aromáticas
Colorantes tipo Azo
Nitrosaminas
Uretano
Agentes alquilantes

B.- COMPUESTOS QUIMICOS CON POSIBLE EFECTO CARCINOGENICO

Aceites isopropilos
Acrilonitrilo
Aflatoxina
Agentes alquilantes
4-amino difenilo
antraceno
auramina
benceno
bencidina
Berilio (Beryllium)
Beta y alfa naftilamina
Bis cloro metil éter
Ciclofosfamida
Clorambucilo
Clornafacina (chlornaphazine)
Compuestos arseniosos
Compuestos níquelados
Creosota
Cromatos
Dietilestilbestrol
Erionita
Estrógenos conjugados
Fenacetina
Fenitoina
Fibras de asbestos
Hidrocarburos aromáticos
Melfalan (Melphalan)
Neoprén
Ninhidrina
Nitrosaminas
Oxido de cadmio
Oximetolona (Oxymetholone)
Petróleo y algunos de sus derivados (cera, parafina, aceites minerales, etc., probablemente por su contenido de hidrocarburos aromáticos)
Tetracloruro de carbón

ANEXO 14. COMPUESTOS CON POTENCIAL TERATOGENICO

A.- PRINCIPALES COMPUESTOS CON POTENCIAL TERATOGENICO EN HUMANOS

Alcohol
 Aminopterina
 Andrógenos
 Bifenilos policlorinados
 Derivados de cumarina
 Dietilestilbestrol
 Difenilhidantoina
 Metilmercurio
 Oxazolidina-2, 4-dionas
 Progestinas
 Propiltiouracilo
 Radiación
 Tetraciclina
 Talidomida

B.- AGENTES CON POTENCIAL TERATOGENICO EN UNA O MAS ESPECIES DE MAMIFEROS

Salicilatos (aspirina)
 Algunos alcaloides (cafeína, nicotina, colchicina)
 Tranquilizantes (meprobamato, clorpromacina, reserpina, diazepam)
 Antihistamínicos (buclicina, medicina, ciclicina)
 Antibióticos (cloramfenicol, estreptomina, penicilina)
 Hipoglicemiantes (carbutamida, tolbutamida, hipoglicinas)
 Corticoides (triancinolona, cortisona)
 Agentes alquilantes (busulfan, clorambucilo, ciclofosfamida, TEM)
 Anestésicos (halotano, uretano, óxido nitroso, pentobarbital)
 Antimetabolitos (ácido fólico, análogos de purina y pirimidina)
 Solventes (benceno, dimetilsulfóxido, propilenglicol)
 Pesticidas (aldrin, malatión, carbaril, 2,4,5-T, captano, folpet)
 Efluentes industriales (algunos compuestos de plomo, mercurio, Arsénico, litio y cadmio)
 Plantas (lupino, arvejas, tabaco)
 Misceláneos (Tripan azul, Triparanol, diamox)

De: "Principles of Drug Actions: The basis of Pharmacology", por W.Pratt & P.Taylor (Churchill Livingstone Inc.) 3rd edition, p. 783-785, 1991.

ANEXO 15. AGENTES QUIMICOS INCOMPATIBLES

Muchos reactivos químicos de uso común no pueden ser mezclados, por las reacciones peligrosas que desarrollan. Los principales son:

- 1) Ac. Acético: con Acido Crómico, Nítrico, compuestos que contienen hidroxilos, etilenglicol, Ac. Perclórico, peróxido y permanganatos.
- 2) Acetona : con mezclas de Ac. Sulfúrico o Nítrico concentrados.
- 3) Acetileno : con Cobre (cañerías), Flúor, Bromo, Cloro, Yodo, Plata, Mercurio.
- 4) Calcio, Potasio y sodio: con agua, CO₂, tetracloruro de carbono y otros hidrocarburos clorinados.
- 5) Amonio anhidro : con Mercurio, halógenos, hipoclorito de calcio, Ac. Fluorídricos.
- 6) Nitrato de Amonio: con Acidos, metal en polvo, líquidos inflamables, cloratos, nitratos, azufre, reactivos, orgánicos finamente pulverizados o combustibles.
- 7) Anilina : con Ac. Nítrico, Ac. Clorhídrico.
- 8) Bromo : con Amonio, acetileno, butadieno, butano, Hidrógeno, Carburo de Sodio, Trementina, metales finamente pulverizados,
- 9) Carbón activado : con hipoclorito de calcio, con todos los oxidantes.
- 10) Cloratos : con Amonio, Acidos, metales en polvo, azufre, carbón, reactivos orgánicos finamente divididos o combustibles.
- 11) Ac. Crómico : con Ac. Acético, Naftaleno, alcanfor, alcohol, glicerol, trementina y otros líquidos inflamables.
- 12) Peróxido de Cloro : con Amonio, acetileno, Hidrógeno sulfurado, Fósforo.
- 13) Cloro : con Amonio, acetileno, butadieno, bencina u otros derivados del Petróleo, Hidrógeno, carburo de sodio, trementina, metales finamente pulverizados.
- 14) Cobre : con acetileno, agua oxigenada.

- 15) Cianuros : con Álcalis, Ácidos.
- 16) Líquidos inflamables: con Nitrato de Amonio, Ac. Crómico, Agua oxigenada, Ac. Nítrico, halógenos, Peróxido de Sodio.
- 17) Agua oxigenada : con cobre, cromo, fierro, la mayoría de los metales o sus sales, líquidos inflamables u otros materiales combustibles, anilina o nitrometano.
- 18) Hidrógeno sulfurado : con Ac. Nítrico fumante, gases oxidantes.
- 19) Hidrocarburos en general: con Fluoruros, Cloruros, Ac. Crómico, Peróxido de sodio, Formamida.
- 20) Yodo : con Acetileno, Amonio.
- 21) Mercurio : con Acetileno, Ac. Fulmínico, Hidrógeno.
- 22) Ac. Nítrico : con Ac. Acético, Ac. Crómico, Ac. Hidroxinámico, Anilina, Carbón, Hidrógeno sulfurado, líquidos y gases en general o sustancias nitradas.
- 23) Oxígeno : con aceite, grasas, Hidrógeno, líquidos, sólidos o gases inflamables.
- 24) Acido Oxálico : con Plata o Mercurio
- 25) Ac. Perclórico : con Ac. Acético anhidro, Bismuto y sus aleaciones, alcohol, papel, madera u otros materiales orgánicos.
- 26) Anhídrido Fosfórico : con Agua.
- 27) Permanganato de Potasio: con glicerol, etilenglicol, benzaldehído, Ac. Sulfúrico.
- 28) Azida Sódica : con Plomo, Cobre y otros metales.
- 29) Plata : con Acetileno, Ac. Oxálico, Ac. Tartárico, compuestos de Amonio.
- 30) Peróxido de sodio : con sustancias oxidables como metanol, Ac. acético glacial, anhídrido acético, benzaldehído, glicerol, etilenglicol, acetato de etilo, disulfuro de carbón.
- 31) Sodio : con Tetracloruro de carbono, anhídrido carbónico, agua.
- 32) Ac. Sulfúrico : con cloratos, percloratos, permanganatos y agua.

**ANEXO 16. EFECTO ADVERSO DE TIPO AGUDO O CRONICO EN EL HOMBRE
DE ALGUNOS AGENTES QUIMICOS DE RIESGO**

Agente Químico	Efecto en el hombre	
	Agudo	Crónico
Acetaldehído	Irritación del tracto respiratorio. Efecto narcótico	Bronquitis Daño Hepático Posible carcinógeno
Anhídrido Acético	Fuerte irritación del tracto respiratorio y ojos. Acción corrosiva.	--
Acetona	Irritación ligera de ojos, nariz y garganta. Efecto narcótico.	--
Acetonitrilo	Irritación ocular, cutánea y respiratoria. Puede provocar convulsiones, pérdida de conocimiento y envenenamiento por cianuro.	
Acroleína	Lagrimeo. Irritación respiratoria grave; edema pulmonar con altos niveles de exposición.	--
Amoníaco, solución	Cáustico para ojos, vías respiratorias y piel	
Anilina	Cianosis por Meta-Leucoglobulina. Parálisis respiratoria. Ligero efecto narcótico.	--
Benceno	Efecto narcótico, vértigos y cefaleas. A altas concentraciones, pérdida del conocimiento y muerte.	Leucemia. Daño Hepático y Renal. Anémia
Cloroformo	Efecto narcótico, irritante para la piel produce cefaleas, nauseas, pérdida de. apetito y ligera ictericia	Daño Hepático y Renal Transtornos gastro- intestinales. Presunto carcinógeno
Cianuro de Metilo	Irritación respiratoria. Envenenamiento por Cianuro.	--
Dioxano	Irritante ocular, narcosis, Daño Hepático y Renal.	Puede ser carcinógeno para el ser humano

Fenol	La sustancia y sus vapores son para los ojos, piel y vías, vías respiratorias Dolor abdominal vómitos y diarreas	Lesiones hepáticas y renales.
Formalina	Grave irritación de los ojos y de la piel, irritación de vías respiratorias. Síntomas tipo asmático	Riesgos de efectos irreversibles a la salud Posible carcinógeno
Glutaraldehído	Irritación respiratoria y de mucosas	--
Isopropanol 2-propanol	Irritante para los ojos y vías respiratorias. Puede tener efecto en el sistema nervioso central, provocando cefaleas, náuseas, mareos y vómitos y coma.	
Metanol	Efecto narcótico. Irritación de mucosas. Daño del nervio óptico.	Daño al nervio Óptico y retina.
Naftilamina (alfa y beta)	Tóxico por inhalación, ingestión y contacto con la piel .	Carcinógeno en el ser humano (cáncer de vejiga) Mutágeno y teratógeno
Nitrobenzeno	Cianosis por metahemoglobina. Ligero efecto narcótico.	Anemia, caída de la presión sanguínea. Metahemoglobine- mia y cianosis. Irritación vesical. Daño Hepático.
Oxido de Tetra- Metileno	Narcosis. Daño Hepático y renal. Irritación ocular y respiratoria.	--
Piridina	Afecta al sistema nervioso central causando mareos, cefaleas, náuseas para respirar. La ingestión produce dolor abdominal, diarrea y vomito	Daños hepáticos y renales
Sodio, cianuro	Sumamente tóxico por ingestión, Inhalación y contacto con la piel	La exposición repetida puede afectar a la tiroides
Tetracloruro de Carbono	Daño Hepático y Renal. Ictericia. Náuseas. Pérdida del apetito. Narcosis.	Daño Hepático y Renal. Trastornos gastro-intestinales.
Tolueno	Efecto narcótico	Trastornos neurológicos. Adicción.

Tricloroetileno	Efecto narcótico. Irrita ojos y piel, Trastornos neurológicos	Puede afectar al hígado y al riñón. Probable carcinógeno para el ser humano.
M-Xileno	Efecto narcótico. Dolor de cabeza. Vértigos. Fatiga. Náuseas.	Trastornos neurológicos
O-Xileno y P-Xileno	Efecto narcótico. Dolor de cabeza. Vértigos. Fatiga. Náuseas.	Trastornos neurológicos

**ANEXO 17. CLASIFICACION, DE USO EN EL INSTITUTO DE SALUD
PUBLICA DE CHILE, DE LOS AGENTES QUÍMICOS SEGÚN SU GRADO DE
RIESGO¹⁸**

GRUPO N° 0

(Grado 0 de riesgo)

	Riesgos	Precauciones
_Amonio acetato	_____	_____
_Cinc granulado	_____	_____
_Dietilditiocarbamato de plata	_____	_____

GRUPO N° 1

(Grado 1 de riesgo).

	Identificación	Riesgos	Precauciones
_Acido cítrico	Salud	36	25-26
_Acido crómico (Cromo VI, óxido)	Salud	8-35	28
	Reactividad		
_Acido etilendiamino tetra acético (EDTA)	Salud	37	22
_Acido fosfomolíbico	Salud	8-35	22/28
_Amino benzaldehído	Salud	10-15-205-7-15-16-23 30-37	
_Asfalto (Brea, alquitrán)	Salud	36/38	24/25
_Cobre II sulfato	Salud	22	20
_1,4-Di-2 (5-fenil oxazolil) benceno (POPOP)	Salud	37/38	22-28
_2,5-difeniloxazol (PPO)	Salud	_____	_____
_Dicloro difluorometano (R-12) ..	Salud	26	3-24/25
_Dimetil sulfóxido (DMSO)	Salud	_____	_____
	Inflamabilidad		
_Etilen glicol	Salud	22	
	Inflamabilidad		

¹⁸ 1) Adaptada del Manual de Bioseguridad del Instituto de Salud Pública de Chile, 2ª Ed., Santiago-Chile, 1992, con la autorización de su Dirección para la Edición del año 1994.

2) Lista ampliada, basada en la Clasificación de Agentes Químicos del Nacional Fire Protection Association (U.S.A.) (NFPA-704-M), y en la Identificación de Riesgos de Materiales de la Norma Chilena (NCH.1.411/IV-1978).

3) Cada categoría principal de riesgo (salud, inflamabilidad y reactividad) tendrá una graduación que va del 0 al 4 e indica la severidad del riesgo. El sistema de asignación de grados de riesgo está basado en valores relativos, por lo tanto, a un mismo material se le pueden asignar diferentes grados de riesgo, dependiendo de diferentes condiciones de almacenamiento u otras variables locales.

_ Monocloro difluoro metano (R 22)	Salud	20	3-24/25
_ Plata nitrato	Salud	34	24-25-26
	Reactividad		
_ Potasio cromato	Salud	36/37/38	22-28

GRUPO N° 2

(Grado 2 de riesgo).

	Identificación	Riesgos	Precauciones
_ Acido nítrico fumante	Salud	8-35	23-26-36
_ Acido sulfanílico	Salud	20/21/22	25-28
_ Amoníaco (25%)	Salud	36/37/38	26
_ Amonio persulfato	Reactividad	2-9-14-19-	3-8-17-30-39
	Salud	20-22-34	
_ Anhídrido acético	Inflamabilidad	10-34	26
	Salud		
	Reactividad		
_ Anhídrido carbónico (Gas)	Salud	2	3-4-7-34
_ Bromuro de etidio	Salud	33-37/38-40	44
	Inflamabilidad		
_ Cadmio sulfato	Salud	23/25-33-40	13-22-44
_ Carbón activado	Salud	20-33-39	22-38
_ Cianuros (Potasio o sodio)	Salud	26/27/28-32	1-7-28-29-45
_ Diclorometano (Cloruro de Mietenileno)	Salud	20	24
_ N, N-Dimetilformamida	Salud	20/21/36	26-28-36
_ Floruros	Salud	27/28-32	1-7-28-29-45
_ Formalina	Salud	23/24/25-43	28
	Inflamabilidad		
_ Formamida	Salud	21/22-36	26
_ 2 – Mercapto etanol	Salud	22/22	20-23
	Inflamabilidad		
_ Mitomicina C	Salud	23/24/25	-----
_ N, N' – Mutilen Bis acrilamida	Salud	10-22	20
_ Nitrógeno (Gas comprimido) ...	Salud	2	3-4-7-34
_ 1 – Naftil anima (a naftilamina)	Salud	26/27/28-39	22-36-27-45
_ o – Tolidina	Salud	20/21	24-51
_ Oxígeno (Gas comprimido)	Salud	2-8-9	3-4-7-18-34
_ Paraformaldehído	Salud	10-21/22	24/25
	Inflamabilidad		
_ Sodio hidrógeno selenito	Salud	24/25	22-24
_ Timerosal	Salud	26/27/28-33	13-28-36-45

GRUPO N° 3

(Grado 3 de riesgo).

	Identificación	Riesgos	Precauciones
_Acetato de etilo	Inflamabilidad	11	16-23-29-33
_Acetato de n – amilo	Inflamabilidad	10	23-16
_Acetato de n – butilo	Inflamabilidad	10	-----
_Acetona	Inflamabilidad	11	9-16-23-33
_Acido bromhídrico	Salud	34-37	7/9-26
_Acido clorhídrico fumante (37%).....	Salud	34-37	26
_Acido fórmico	Salud	35	23-26
_Acido láctico.....	Salud	34	26-28
_Acido ortofosfórico (85 – 95%)	Salud	34	26
_Acido perclórico	Salud	5-8-35	23-26-36
_Acido sulfúrico 96%	Salud	35	26-30
_Acido tricloro acético.....	Salud	35	24/25-26
_Acrilamida	Salud	23/24/25-33	27-44
_Alcohol n - amílico	Inflamabilidad	10-20	24/25
_Alcohol n - butílico... ..	Inflamabilidad	10-20	16
_Alcohol etílico	Inflamabilidad	11	9-16-23-33-7
_Alcohol isobutílico	Inflamabilidad	10-20	16
_Alcohol isopropílico	Inflamabilidad	11	7-16
_Alcohol metílico	Salud	11-23/25	7-16-24
_Amoníaco (anhídrido, gas).....	Salud	10-23	7/9-16-38
_Anilina	Salud	23/24/25-33	28-36/37-44
_Asénico III óxido	Salud	23/25-33	1-20/21-28-44
_Benceno	Inflamabilidad	11-23/24-39	9-16-29
_Carbono disulfuro	Inflamabilidad	12-26	27-29-33-43-45
_Carbono tetracloruro	Salud	26/27-40	38-45
_Cloro (Gas)	Salud	23-36/37/38	7/9-44
_Cloroformo	Salud	20	24/25
_Difenilamina	Salud	23/24/25-33	28-36/37-44
_4 Dimetil aminobenzaldehído, sol. Alcohólica	Salud		
_N, N – Dimetil amino – 1,4 fenilen diamonio dicloruro	Inflamabilidad	10-25-30	3-7-15-16
Fenol	Salud	23/24-25	28-44
_Gasolina (Bencina).....	Salud	24/25-34	28-44
_n hexano	Inflamabilidad	10	-----
_Manganeso II Cloruro.....	Inflamabilidad	11	9-16-23-29-33
_Manganeso II Sulfato.....	Salud	26/27/28-33	1-13-28-45
_Mercurio II Acetato	Salud	26/27/28-33	1-13-28-45
_Mercurio II Cloruro (Sublimado).....	Salud	26/27/28-33	1/13-28-45
_Mercurio metálico	Salud	23/33/36/37	7-22-28-44-38
_Nafta de petróleo	Inflamabilidad	10	
_p nitro anilina	Salud	23/24/25-33	28-36/37-44
_Nitrobenceno	Salud	26/27/28-33	28-36/37-45

_Ozono	Salud	23-9	17-23-24
	Reactividad		
_Piridina	Salud	11-20/21/22	26-28
	Inflamabilidad		
_Plomo II acetato trihidrato	Salud	20/22-23	13-20/21
	Reactividad		
_Potasio dicromato.....	Salud	36/37/38-43	22-28
_Potasio hidróxido.....	Salud	35	26-37/39
_Potasio permanganato	Salud	8-20/21/22	23-42
	Reactividad		
_Selenito granulado	Salud	23/25-33	20-21-28-44
_Sodio boranato (Sodioboro- Hidruro).....	Salud		
	Inflamabilidad	15-31	7/8
_Sodio Hidróxido	Salud	35	26-37/39
_Sulfato de dimetilo	Salud	26/27-40	7/9-24/25-26-45
_N, N, N', N'' – tetra mutilen diamina	Inflamabilidad	36/37/38	16-24/25-
	Salud	11-22	29-33
_Tolueno	Inflamabilidad	11-20	16-29-33
_o - Toluidina	Salud	23/24/25-33	28-36/37-44
_Transazobenceno	Salud	20/22	28
_Trementina esencia	Salud	23/24/25	7-21-23-24/25
_o - xileno	Inflamabilidad	10-20	24/25
_Yodo	Salud	20/21	23/25

GRUPO N° 4

(Grado 4 de riesgo).

	Identificación	Riesgos	Precauciones
_Acetileno (Gas)	Inflamabilidad	5-6-12	9-16-33
_Acido acético glacial	Inflamabilidad	10-35	23-26
_Acido fluorhídrico.....	Salud	26/27/28-35	7/9/26-36/37-45
_Acido pícrico (con 0,5 ml. De agua por g)	Inflamabilidad	2-4-23/24/25	28-35-37-44
_Acido sulfhídrico (Gas).....	Inflamabilidad	13-26	7/9-25-45
_Arsina	Salud	26	23-28-46
_Azida de sodio	Salud	28-32	28
_1 cloro 2,4 – dinitro benceno	Reactividad	23/24/25-33	28-37-44
_Eter etílico (dietil éter).....	Inflamabilidad	12-19	9-16-29-33
_Éter de petróleo (Bencina de petróleo)	Inflamabilidad	12-19	9-16-29-33
_Etil mercaptano (etanotiol)	Salud	11-20	16-25
	Inflamabilidad		
_Talio (I) Acetato	Salud	26/28-33	13-28-45

ANEXO 18. RIESGOS ESPECÍFICOS Y PRECAUCIONES ACONSEJABLES PARA EL MANEJO DE AGENTES QUÍMICOS DE RIESGO¹⁹

1.-RIESGOS ESPECÍFICOS (NORMAS R).

- R – 1 – Riesgo de explosión en estado seco.
- R – 2 - Riesgo de explosión por choque, fricción, fuego u otras fuentes de ignición.
- R – 3 – Grave riesgo de explosión por choque, fricción, fuego u otras fuentes de ignición.
- R – 4 - Forma compuestos metálicos explosivos muy sensibles.
- R – 5 - Peligro de explosión por la acción del calor.
- R – 6 – Peligro de explosión en y sin contacto con el aire.
- R – 7 – Puede provocar incendios.
- R – 8 – Peligro de fuego en contacto con sustancias combustibles.
- R – 9 – Peligro de explosión al mezclar con sustancias combustibles.
- R – 10 – Inflamable.
- R – 11- Muy inflamable.
- R – 12 – Extremadamente inflamable.
- R – 13 - Gas licuado extremadamente inflamable.
- R – 14 – Reacciona violentamente con el agua.
- R – 15 - Reacciona con el agua produciendo gases muy inflamables.
- R – 16 – Riesgo de explosión en mezcla con sustancias comburentes (oxidantes).
- R – 17 – Se inflama espontáneamente al aire.
- R – 18 – Al usarlo puede formar mezclas vapor-aire explosivas/inflamables.
- R – 19 – Puede formar peróxidos explosivos.
- R – 20 – Nocivo por inhalación.
- R – 21 – Nocivo en contacto con la piel.
- R – 22 – Nocivo por ingestión.
- R – 23 – Tóxico por inhalación.
- R – 24 – Tóxico en contacto con la piel.
- R – 25 – Tóxico por ingestión.
- R – 26 - Muy tóxico por inhalación.
- R – 27 – Muy tóxico en contacto con la piel.
- R – 28 - Muy tóxico por ingestión.
- R – 29 – Emite gases tóxicos en contacto con el agua.
- R – 30 – Puede inflamarse fácilmente durante el uso.
- R – 31 - Emite gases tóxicos en contacto con los ácidos.
- R – 32 - Emite gases muy tóxicos en contacto con los ácidos.
- R – 33 – Peligro de efectos acumulativos.
- R – 34 – Provoca quemaduras.
- R – 35 – Provoca graves quemaduras.
- R – 36 – Irrita los ojos.
- R – 37 – Irrita el sistema respiratorio.

¹⁹ Recomendaciones de la Comunidad Económica Europea.

- Adaptada del Manual de Bioseguridad del Instituto de Salud Pública de Chile, 2ª Ed., Santiago-Chile, 1992, con la autorización de su dirección para la Edición del año 1994.

- R – 38 – Irrita la piel.
- R – 39 – Riesgo de efecto irreversibles muy graves.
- R – 40 – Probabilidad de efectos irreversibles.
- R – 41 – Riesgo de grave lesión a los ojos.
- R – 42 – Probabilidad de sensibilización por inhalación.
- R – 43 – Probabilidad de sensibilización por contacto con la piel.
- R – 44 – Riesgo de explosión si se calienta en confinamiento.
- R – 45 – Puede provocar cáncer.
- R – 46 – Puede provocar daño genético hereditario.
- R – 47 – Puede provocar efectos teratogénicos.
- R – 48 – Riesgo de serio daño a la salud por exposición prolongada.

COMBINACION DE NORMAS R.

- R – 14/15 - Reacciona violentamente con el agua produciendo gases muy inflamables.
- R– 15/29 Reacciona con el agua produciendo gases venenosos y fácilmente inflamables.
- R – 20/21 - Nocivo por inhalación y contacto con la piel.
- R – 20/21/22 - Nocivo por inhalación, ingestión y contacto con la piel.
- R – 20/22 - Nocivo por inhalación y por ingestión.
- R – 21/22 - Nocivo por contacto con la piel y por ingestión.
- R – 23/24 - Tóxico por inhalación y contacto con la piel.
- R – 23/24/25 - Tóxico por inhalación, ingestión y contacto con la piel.
- R – 23/25 - Tóxico por inhalación y por ingestión.
- R – 24/25 - Tóxico por contacto con la piel y por ingestión.
- R – 26/27 - Muy tóxico por inhalación y contacto con la piel.
- R – 26/27/28 - Muy tóxico por inhalación, ingestión y contacto con la piel.
- R – 26/28 - Muy tóxico por inhalación y por ingestión.
- R – 27/28 - Muy tóxico por contacto con la piel y por ingestión.
- R – 36/37 - Irrita los ojos y sistema respiratorio.
- R – 36/37/38 - Irrita los ojos, sistema respiratorio y la piel.
- R – 37/38 - Irrita el sistema respiratorio y la piel.
- R – 36/38 - Irrita los ojos y la piel.
- R – 42/43 - Probabilidad de sensibilización por inhalación y por contacto con la piel.

2.-PRECAUCIONES ACONSEJABLES (NORMAS S).

- S – 1 – Guardar bajo llave.
- S – 2 – Mantener fuera del alcance de los niños.
- S – 3 – Mantener en sitio fresco.
- S – 4 – Guardar fuera de espacios habitados.
- S – 5 – Mantener bajo... (líquido apropiado a especificar por el fabricante).
- S – 6 – Mantener bajo... (gas inerte a especificar por el fabricante).
- S – 7 – Mantener el recipiente bien cerrado.
- S – 8 – Mantener el recipiente en sitio seco.
- S – 9 – Mantener el recipiente en sitio ventilado.
- S – 10 – Mantener el producto en estado húmedo.
- S – 11 – Evitar contacto con el aire.
- S – 12 – No cerrar herméticamente el recipiente.
- S – 13 – Mantener lejos de alimentos, bebidas y piensos (alimento para animales).

- S – 14 – Mantener lejos de... (sustancias incompatibles a especificar por el fabricante).
- S – 15 – Mantener lejos del calor.
- S – 16 – Mantener lejos de fuentes de ignición. No fumar.
- S – 17 – Mantener lejos de materiales combustibles.
- S – 18 – Manipular y abrir el recipiente con cuidado.
- S – 19 – No comer ni beber durante la manipulación.
- S – 21 – No fumar durante la manipulación.
- S – 22 – Evitar respirar el polvo.
- S – 23 – Evitar respirar los gases/humos/vapores/aerosoles (denominación (es) adecuada (s) a especificar por el fabricante).
- S – 24 – Evitar contacto con la piel.
- S – 25 – Evitar contacto con los ojos.
- S – 26 – En caso de contacto con los ojos, lavar de inmediato abundantemente con agua y acudir al médico.
- S – 27 – Quitar inmediatamente la ropa contaminada o empapada.
- S – 28 – En caso de contacto con la piel, lavar de inmediato abundantemente con... (productos adecuados indicados por el fabricante).
- S – 29 – No eliminar residuos por lo desagües.
- S – 30 – Nunca verter agua sobre este producto.
- S – 31 – Mantener lejos de materiales explosivos.
- S – 33 – Evitar la acumulación de cargas electrostáticas.
- S – 34 – Evitar choque y fricción.
- S – 35 – Eliminar los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.
- S – 36 – Usar ropa de protección durante la manipulación.
- S – 37 – Usar guantes de protección apropiados.
- S – 38 – En caso de ventilación insuficiente, usar equipo respiratorio adecuado.
- S – 39 – Protegerse los ojos/la cara.
- S – 40 – Para limpiar el piso y los objetos contaminados por este producto, utilizar... (productos a especificar por el fabricante).
- S – 41 – En caso de incendio y/o explosión, no respirar los humos.
- S – 42 – Durante las fumigaciones/pulverizaciones, utilizar equipo respiratorio adecuado denominación (es) adecuada (s) a especificar por el fabricante).
- S – 43 – En caso de incendio utilizar... (los equipos de extinción debe indicarlos el fabricante).
- S – 44 – En caso de malestar acudir al médico (si es posible muestre la etiqueta del frasco o su contenido).
- S – 45 – En caso de accidente o de malestar acudir inmediatamente al médico (si es posible muestre la etiqueta del frasco o su contenido).
- S – 46 – En caso de ingestión acudir inmediatamente al médico y muestre la etiqueta del frasco o el contenido
- S – 47 – Mantener a una temperatura que no exceda de... C° (temperatura especificada por el fabricante)
- S – 48 – Mantener húmedo con... (productos adecuados indicados por el fabricante).
- S – 49 – Mantener sólo en el envase original.
- S – 50 – No mezclar con... (productos a ser especificados por el fabricante).
- S – 51 – Use sólo en áreas bien ventiladas.
- S – 52 – No recomendable para uso interior en áreas de gran superficie.

COMBINACION DE NORMAS S.

- S – 1/2 - Guardar bajo llave y fuera del alcance de los niños.
- S – 3/7/9 - Mantener el recipiente bien cerrado en lugar fresco y bien ventilado.
- S – 3/9 - Mantener el recipiente en lugar fresco y ventilado
- S – 3/9/14 - Mantener el recipiente en lugar fresco, bien ventilado y lejos de... (productos incompatibles a ser indicados por el fabricante).
- S – 3/9/14/49 - Mantener sólo en el envase original, en un lugar fresco y bien ventilado, lejos de... (productos incompatibles a ser indicados por el fabricante).
- S – 3/9/49 - Mantener sólo en el envase original, en un lugar fresco y bien ventilado.
- S – 3/14 - Mantener el recipiente en lugar fresco, lejos de... (productos incompatibles a ser indicados por el fabricante).
- S – 7/8 - Mantener el recipiente bien cerrado y en sitio seco.
- S – 7/9 - Mantener el recipiente bien cerrado en lugar bien ventilado
- S – 20/21 - No comer, no beber, ni fumar durante la manipulación.
- S – 24/25 - Evitar contacto con los ojos o la piel.
- S – 36/37 - Usar guantes y ropa de protección adecuados durante la manipulación.
- S – 36/37/39 - Usar ropa, guantes y gafas o pantalla de protección facial adecuada durante la manipulación.
- S– 36/39 - Usar ropa y pantalla de protección facial adecuada durante la manipulación.
- S – 37/39 - Usar guantes y pantalla de protección facial adecuada durante la manipulación.
- S – 47/49 - Mantener sólo en el envase original a temperatura que no exceda de... °C (temperatura especificada por el fabricante).

Las sustancias que se enumeran a continuación, están prohibidas y no se pueden usar en los lugares de trabajo, a excepción de los casos calificados por la autoridad sanitaria, según lo dispuesto por el Artículo 22 del "Reglamento Sobre Condiciones Sanitarias y Ambientales Mínimas en los Lugares de Trabajo" N° 78, del 9. II. 1983, Ministerio de Salud Chile.

- Benzidina.
- Dimetil Nitrosamina (N-Nitroso Dimetilamina).
- Beta naftilamina.
- Beta propiolactona.
- Cloro dimetil etil éter.
- Di bromo etileno.
- 4 – nitro difenilo
- 4 - (p - xenilamina).