

Centro UC

Toxicología - CITUC

INFORME DE PROYECTO

“INVESTIGACIÓN COOPERATIVA Y SELECCIÓN DE PRODUCTOS QUÍMICOS DE ALTOS VOLUMENES DE PRODUCCIÓN”

PREPARADO POR: CENTRO UC – TOXICOLOGÍA CITUC

PARA: SUBSECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE

VERSION: 01

DICIEMBRE - 2015

RESUMEN EJECUTIVO

En el año 1987, los Estados Miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) decidieron establecer o fortalecer los programas nacionales de investigación sistemática de sustancias químicas existentes con el fin de identificar aquellas que necesitan ser gestionadas y/o controladas. En esta línea, el año 1991, los Estados Miembros acordaron investigar cooperativamente las sustancias químicas existentes de alto volumen de producción (HPV) para identificar aquellas potencialmente peligrosas para el medio ambiente y/o la salud de trabajadores o público general. El *Cooperative Chemicals Assessment Programme* (CoCAP) de la OCDE fue establecido como evolución del programa HPV inicial.

El año 2010, durante el proceso de acceso de nuestro país a la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), Chile suscribió como compromiso la Recomendación del Consejo sobre investigación cooperativa y reducción de riesgos de productos químicos existentes (C(90)163).

Actualmente, Chile no cuenta con información disponible y suficiente que permita seleccionar los productos químicos de alto volumen de producción potencialmente peligrosos para el medio ambiente y/o salud de las personas, de modo de realizar posteriormente una adecuada investigación sobre ellos y sus riesgos potenciales.

Este informe compila la implementación local en otros países de la OCDE en lo relativo a la investigación cooperativa de sustancias químicas existentes. Compila la información disponible a nivel nacional en cuanto a sustancias químicas de alto volumen, junto con las competencias de uno de los organismos públicos en lo relacionado a gestión de sustancias químicas.

El grupo consultor propone un mecanismo, inicialmente voluntario, para la investigación cooperativa de sustancias químicas de alto volumen en el marco del programa CoCAP y propone la implementación de un sistema de reporte de sustancias químicas que permita sistematizar la recolección de información sobre sustancias químicas de alto volumen en Chile, junto a los usos razonablemente previsibles.

CONTENIDO

RESUMEN EJECUTIVO	2
1. INTRODUCCIÓN	6
2. EL PROGRAMA HPV DE LA OCDE	8
3. ESTRATEGIAS EXTRANJERAS PARA LA EVALUACIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS DE ALTO VOLUMEN	10
4. FORTALEZAS Y DEBILIDADES DE LOS PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN HPV	20
5. PROPUESTA DEFINICIÓN CHILE	22
6. COMPETENCIAS LEGALES DE LAS DISTINTAS ORGANIZACIONES GUBERNAMENTALES DEL PAÍS EN MATERIA DE GESTIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS	24
7. RECOPIACIÓN DE INFORMACIÓN DE LAS ACTUALES PLATAFORMAS INFORMÁTICAS DE LAS DISTINTAS ORGANIZACIONES GUBERNAMENTALES DEL PAÍS EN MATERIA DE SUSTANCIAS QUÍMICAS.	39
8. RECOPIACIÓN DE INFORMACIÓN DISPONIBLE RELATIVA A SQAV EN CHILE	87
9. PROPUESTA DE MECANISMO PARA LA INVESTIGACIÓN COOPERATIVA DE SQAV	93
10. PROPUESTA DE PLATAFORMA INFORMÁTICA QUE PERMITA LA RECOPIACIÓN Y ACTUALIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN RELATIVA A LOS PRODUCTOS QUÍMICOS DE ALTO VOLUMEN DE PRODUCCIÓN DEL PAÍS....	96
ANEXO 1: FORMATO DE NOTIFICACIÓN Y REQUERIMIENTOS CDR – US EPA.	100
ANEXO 2: CONJUNTO DE DATOS BÁSICOS TOXICOLÓGICOS Y ECOTOXICOLÓGICOS NECESARIOS PARA HACER UN JUICIO INFORMADO ACERCA DE LOS PELIGROS UNA SUSTANCIA QUÍMICA.	103
BIBLIOGRAFÍA	184

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Requerimientos técnicos bajo el Reglamento (CEE) No 793/93	13
Tabla 2 Escala de puntaje para la priorización de sustancias de alta preocupación (ECHA)	15
Tabla 3 Fortalezas y debilidades de los programas de investigación HPV.....	20
Tabla 4 Instituciones con atribuciones en la gestión de sustancias químicas	25
Tabla 5 Otras materias de competencia del Ministerio de Salud.....	28
Tabla 6 Resoluciones relativas a la autorización de plaguicidas.....	29
Tabla 7 Plaguicidas prohibidos y/o restringidos por SAG	30
Tabla 8 Materias bajo el alcance del Ministerio del Interior.....	32
Tabla 9 Acuerdos de producción limpia en el sector silvoagropecuario	33
Tabla 10 Resumen de convenios internacionales	34
Tabla 11 Etapas y descripción del proceso para la autorización de plaguicidas de uso agrícola.....	40
Tabla 12 Tipo de registro de información en el proceso de autorización de plaguicidas agrícolas.....	41
Tabla 13 Extracto de la solicitud de autorización en Diario Oficial	41
Tabla 14 Etiquetado de plaguicidas de uso agrícola	41
Tabla 15 Resolución de autorización de plaguicidas	43
Tabla 16 Información disponible para los plaguicidas de uso agrícolas autorizados	43
Tabla 17 Información disponible para los plaguicidas cancelados	44
Tabla 18 Información disponible para plaguicidas restringidos y/o prohibidos.....	44
Tabla 19 Información de carácter confidencial asociada a plaguicidas de uso agrícola.....	45
Tabla 20 Información incluida en un certificado de destinación aduanera para plaguicidas de uso agrícola.....	45
Tabla 21 Contenidos del informe de inspección de productos agropecuarios	46
Tabla 22 Informe de hoja seguridad de plaguicida de uso agrícola	46
Tabla 23 Certificado de análisis de composición.....	46
Tabla 24 Tipo de información disponible en registro asociado a formulación nacional	47
Tabla 25 Información requerida para la declaración de inicio de actividades y ubicación	47
Tabla 26 Información indicada en el análisis de composición.....	48
Tabla 27 Marco reglamentario para la fiscalización de plaguicidas agrícolas	48
Tabla 28 Tipo de información asociada al comercio de plaguicidas de uso agrícola.....	49
Tabla 29 Información indicada en declaración de inicio de actividades y ubicación	50
Tabla 30 Acta de fiscalización del comercio de plaguicidas	50
Tabla 31 Marco normativo asociado a la fiscalización de bodegas y transporte de plaguicidas.....	50
Tabla 32 Normativa asociada a la fiscalización del uso/aplicación de plaguicidas	51
Tabla 33 Información indicada en la declaración de venta de plaguicidas	52
Tabla 34 Información en la declaración de existencia de plaguicidas caducados	53
Tabla 35 Prestaciones de la unidad de plaguicidas del ISP.....	53
Tabla 36 Secciones del formulario de registro de plaguicidas de uso sanitario y domiciliario.....	56
Tabla 37 Antecedentes legales de la empresa para el registro de plaguicidas sanitarios y domiciliarios.....	57
Tabla 38 Antecedentes técnicos para el registro de plaguicidas y desinfectantes	57
Tabla 39 Antecedentes analíticos para el registro de plaguicidas de uso sanitario	58
Tabla 40 Elementos del interés descritos en D.S. 157.....	59
Tabla 41 Normativa asociada a la gestión de sanitizantes y desinfectantes	60
Tabla 42 Antecedentes asociados al registro de sanitizantes y desinfectantes	61
Tabla 43 Documentos requeridos para solicitud de registro sanitizantes y desinfectantes	61
Tabla 44 Secciones del formulario de registro de desinfectantes y plaguicidas	62
Tabla 45 Especificaciones técnicas para el registro de productos desinfectantes y sanitizantes.....	64
Tabla 46 Criterios de rechazo de productos.....	66
Tabla 47 Indicaciones del envase de desinfectantes y sanitizantes	67
Tabla 48 Documentos requeridos para obtener CDA para sustancias peligrosas	68
Tabla 49 Documentación requeridas para obtener autotrazabilidad de uso y disposición	69
Tabla 50 Otra normativa asociada a precursores y sustancias químicas esenciales	70
Tabla 51 Sistema de información asociados a precursores y sustancias químicas esenciales	72

Tabla 52 Procedimientos administrativos asociados al control de explosivos y sustancias precursoras	76
Tabla 53 Antecedentes (preliminares) para la instalación de fábrica de productos químicos sujetos a control de la DGMN	76
Tabla 54 Antecedentes para proyecto definitivo de fábrica de productos químicos controlados por DGMN.....	77
Tabla 55 Antecedentes a presentar en el permiso de fabricación de productos químicos controlados por DGMN	77
Tabla 56 Antecedentes requeridos para la inscripción como importador, exportador, comerciante o consumidor habitual de productos químicos controlados por la DGMN	78
Tabla 57 Particularidades del Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes (RETC)	82
Tabla 58 Sustancias Químicas de Alto Volumen de Importación	87
Tabla 59 Sustancias Químicas de Alto Volumen de Producción.....	89
Tabla 60 SQAV de producción relevantes en el contexto internacional	91
Tabla 61 Propuesta de priorización de SQAV	95
Tabla 62 Sector de Uso.....	97
Tabla 63 Descriptor Suplementario de Uso.....	97
Tabla 64 Categoría de Producto	98
Tabla 65: Ensayos de Toxicidad Aguda.....	109
Tabla 66: Comparación Ensayo OCDE 403/US-EPA 870.1300	118
Tabla 67: Dosificación Guía 433	119
Tabla 68: Niveles de dosis fijas/ tiempo de exposición	120
Tabla 69: Evaluación de resultados TG 430.....	126
Tabla 70: Fortalezas, debilidades y limitaciones TG 430	127
Tabla 71: Fortalezas, debilidades y limitaciones TG 431	129
Tabla 72: Fortalezas, debilidades y limitaciones TG 435	130
Tabla 73: Fortalezas, debilidades y limitaciones TG 439	131
Tabla 74: Puntuación de reacciones a la piel TG 404	133
Tabla 75: Fortalezas, debilidades y limitaciones TG 404	133
Tabla 76: Comparación Ensayo OCDE TG 404/US-EPA 870.2500.....	134
Tabla 77: Dosificación TG 405	135
Tabla 78: Comparación Ensayo OECD 405/US-EPA 870.2400	136
Tabla 79: Score Eritema	142
Tabla 80: Comparación de ensayos sensibilización	144

1. INTRODUCCIÓN

La Política Nacional de Seguridad Química (PNSQ) establece como objetivo principal reducir los riesgos asociados a la manipulación y/o manejo de las sustancias químicas, en todo su ciclo de vida, incluyendo las etapas de importación, exportación, producción, utilización, transporte, almacenamiento, y eliminación, a fin de proteger la salud humana y el medio ambiente.

Dicha PNSQ considera entre objetivos específicos

1. Fortalecer la institucionalidad vinculada a la gestión de las sustancias químicas.
2. Fortalecer y dar coherencia al marco normativo aplicable a la gestión segura de las sustancias químicas.
3. Fortalecer el control y la fiscalización en todo el ciclo de vida de las sustancias químicas.
4. Promover el análisis de riesgo en el ciclo de vida de las sustancias químicas.
5. Fortalecer la aplicación de instrumentos existentes asociados con la seguridad química en los lugares de trabajo.
6. Incentivar la generación y aplicación de instrumentos voluntarios de gestión para mejorar el manejo de las sustancias químicas con énfasis en las pequeñas y medianas empresas.
7. Promover la difusión, formación, capacitación e investigación en materia de seguridad química.
8. Participar activa y coordinadamente en la Agenda Química Internacional y dar cumplimiento a los compromisos suscritos por el país.
9. Fortalecer y promover la Institucionalidad de la Gestión Coordinada en materia de Emergencias Químicas (prevención, respuesta, recuperación).

En este sentido, la PNSQ abordaba de una forma integral los distintos ámbitos asociados a las sustancias químicas del país, por lo cual el año 2010, durante el proceso de acceso de nuestro país a la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), Chile presentó la PNSQ como el instrumento articulador de una serie de acciones, que permitían dar cumplimiento a los actos que la OCDE establecía como requisito en materia de sustancias químicas, plaguicidas y biotecnología para poder acceder como miembro permanente.

Uno de los actos de la OCDE que Chile suscribió como compromiso, corresponde a la Decisión-Recomendación del Consejo sobre investigación cooperativa y reducción de riesgos de productos químicos existentes (C(90)163), que incluye:

- Investigar cooperativamente los productos químicos de Alto Volumen de Producción (High Production Volume, HPV) que son potencialmente peligrosos para el medio ambiente y/o salud del público en general o de los trabajadores.
- Selección de los productos químicos HPV para investigación y definición de datos básicos necesarios para hacer un juicio informado sobre los riesgos potenciales de cada químico, a través de la recopilación de datos disponibles o asegurando que las pruebas se llevan a cabo.

Actualmente, Chile no cuenta con información disponible y suficiente que permita seleccionar los productos químicos de alto volumen de producción potencialmente peligrosos para el medio ambiente y/o salud de las personas de manera sistemática, de modo de realizar posteriormente una adecuada investigación sobre ellos y sus riesgos potenciales.

2. EL PROGRAMA HPV DE LA OCDE

En el año 1987, los Estados Miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) decidieron establecer o fortalecer los programas nacionales de investigación sistemática de sustancias químicas existentes con el fin de identificar aquellas que necesitan ser gestionadas y/o controladas¹. En esta línea, el año 1991², los Estados Miembros acordaron investigar cooperativamente las sustancias químicas existentes de alto volumen de producción (HPV) para identificar aquellas potencialmente peligrosas para el medio ambiente y/o la salud de trabajadores o público general. Para cumplir este objetivo, decidieron seleccionar las sustancias HPV a investigar, acordar un conjunto de datos mínimos para elaborar un juicio informado acerca de los potenciales peligros de estas sustancias químicas a través de la recolección de información existente o la generación de nuevos datos y la realización de una evaluación preliminar de los potenciales peligros basado en este conjunto de datos. De esta forma, los Estados Miembros acordaban compartir el costo de la evaluación al patrocinar una parte de los HPV incluidos en el programa. Adicionalmente, recomendaron llevar a cabo actividades adicionales para la generación de información, evaluaciones sistemáticas de los peligros y riesgos asociados a los HPV identificados como potencialmente peligrosos en la evaluación preliminar y extender el alcance de la investigación a sustancias químicas no identificadas como HPV.

El *Cooperative Chemicals Assessment Programme* (CoCAP) de la OCDE fue establecido como evolución del programa HPV inicial. Este cambio responde a la necesidad de actualizar el programa de acuerdo a la evolución de los programas de registro y evaluación, tal como el caso del sistema REACH de la Unión Europea. Desde el punto de vista técnico, el CoCAP se focaliza en sustancias de uso industrial de interés global, HPV o no HPV, nuevas o existentes, incorporando adicionalmente métodos *in situ* o de relación estructura actividad para la predicción o estimación de parámetros (eco) toxicológicos y ambientales. Otro de los cambios importantes es la no inclusión de una recomendación dirigida a los países, focalizándose una descripción de los peligros identificados. Adicionalmente, la información de uso se reduce a un patrón de uso y volúmenes de producción.

Inicialmente, las sustancias HPV fueron definidas como aquellas producidas o importadas en una cantidad mayor a 1.000 toneladas por año en al menos un Estado Miembro o en la Unión Europea. Una vez identificado, cada país patrocina la investigación de una porción de los HPV pudiendo incluir sustancias no HPV. Actualmente, el programa CoCAP se extiende a la evaluación de sustancias químicas disponibles en el mercado, independiente de su volumen.

El CoCAP tiene por objetivo:

- Minimizar la duplicación de trabajo entre estados miembros,
- Aumentar la disponibilidad de evaluación de sustancias químicas a nivel internacional,
- Generar un foro de intercambio de experiencias entre países miembros, industria y organizaciones no gubernamentales,

¹ Decision-Recommendation of the Council on the Systematic Investigation of Existing Chemicals. 26 June 1987 - C(87)90/FINAL.

² Decision-Recommendation of the Council on the Co-operative Investigation and Risk Reduction of Existing Chemicals. 31 January 1991 - C(90)163/FINAL.

- Proveer un espacio para el desarrollo y aplicación de métodos innovadores para la evaluación de sustancias químicas.

Alternativamente, la Industria Química puede decidir patrocinar la evaluación de una sustancia directamente y presentarla directamente al programa.

La evaluación de cada sustancia involucra:

- i. Un reporte con los principales hallazgos de cada parámetro evaluado,
- ii. Un resumen con las conclusiones para cada parámetro,
- iii. Los resúmenes de los estudios o resúmenes robustos de estudios (RSS, del inglés *robust study summaries*) de la información recopilada para cada parámetro.

El patrocinador pone a disposición del programa un borrador de la evaluación inicial incluyendo conclusiones sobre los potenciales peligrosos asociados a la sustancia. Esta evaluación incluye la información descrita en el conjunto de datos mínimos para establecer un juicio informado definidos en el *Screening Information Data Set (SIDS)*. En casos particulares, la evaluación puede contener parte del SIDS para una evaluación sobre ciertos parámetros bajo el denominado *targeted assessment*. En ambos casos, las evaluaciones son discutidas en las *Cooperative Chemicals Assessment Meeting (CoCAM)*, reuniones que se llevan a cabo dos veces al año y se establecen las conclusiones. Estas conclusiones se presentan con suficiente detalle y claridad, entregando información útil para la clasificación de sustancias y los programas de gestión de cada país. Las conclusiones acordadas en el CoCAM son posteriormente avaladas por *el Task Force on Hazard Assessment* y el *Joint Meeting of the Chemicals Committee and Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology* de la OCDE.

Las ventajas de participar en el CoCAP/HPV, se pueden resumir en los siguientes puntos:

1. Elaboración y diseminación de las conclusiones acordadas por OCDE en relación a peligros de las sustancias químicas,
2. Desarrollar y aplicar aproximaciones integradas para el ensayo y evaluación de sustancias químicas,
3. Evitar duplicación de esfuerzos,
4. Propiciar un foro de intercambio de experiencias en países miembros.

Dada la evolución de los programas reglamentarios a nivel nacional, el CoCAP ha evolucionado cubriendo evaluaciones dirigidas y parámetros no cubiertos por SIDS y abarcando sustancias (o grupo de sustancias) químicas HPV y no HPV, existentes o nuevas, que sean de interés de un país. Las razones para su inclusión pueden incluir aquellas con peligros identificados que puedan ser significativos en relación a un análisis de riesgo subsecuente o para la gestión de riesgo o para diseminar las conclusiones acordadas para parámetros específicos no considerados previamente. Finalmente, es importante que la conclusión del trabajo conjunto se restringe a determinar si la sustancia es actualmente de baja prioridad para investigación adicional o la sustancia es candidato para investigación adicional.

3. ESTRATEGIAS EXTRANJERAS PARA LA EVALUACIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS DE ALTO VOLUMEN

3.1 Australian High Volume Industrial Chemical List (HVICL)

En el año 2002 y 2006, el *Department of Health, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme* compiló los químicos industriales manufacturados o importados en Australia en una cantidad igual o superior a 100 toneladas por año, cuya información fue proveída por la industria. Con esta información se compiló el denominado *Australian High Volume Industrial Chemical List* (HVICL). Un químico industrial se definió como cualquier sustancia química que tiene uso industrial, teniendo o no otro tipo de uso, excluyendo el uso agrícola, veterinario, uso como y para uso farmacéutico o en alimentos. Solo aquellos cuya importación o producción exceden las 1000 toneladas por año se incluyeron en el HVICL, contabilizando exclusivamente la cantidad de la sustancia para uso industrial. Adicionalmente, una serie de categorías de químicos industriales fueron exceptuadas, incluyendo artículos, materiales radioactivos, productos químicos de producción incidental, sustancias químicas que se presentan naturalmente en el ambiente y polímeros. El HVICL contiene las cantidades reportadas acumuladas de las sustancias químicas, uso y categoría industrial en bandas definidas por órdenes de magnitud 1.000-9.999 toneladas, 10.000-99.999 t/a, 100.000-999.999 t/a y mayor a 1.000.000 toneladas.

El HVICL es parte del programa de evaluación de sustancias existentes prioritarias (*Priority Existing Chemical Assessment*, PEC). El PEC considera la evaluación de sustancias existentes cuando existen argumentos razonables para estimar que la manufactura, manejo, almacenamiento, uso o disposición de la sustancia puede ser un riesgo a la salud humana o ambiental. A la fecha se encuentran disponibles 40 evaluaciones en el marco del PEC las que pueden contemplar restricciones y recomendaciones reglamentarias.

En paralelo, la reglamentación australiana en función del inventario australiano de sustancias químicas (*Australian Inventory of Chemical Substances*, AICS) contempla la notificación y evaluación de las sustancias nuevas que, por definición, son aquellas no incluidas en el AICS³.

Actualmente, Australia ha reformulado su marco reglamentario para la evaluación de sustancias químicas existentes con el denominado *Inventory Multi-tiered Assessment and Prioritisation* (IMAP)⁴. Los objetivos del IMAP son la identificación y evaluación rápida de sustancias químicas (existentes) de preocupación conducente a mejorar el flujo de información sobre seguridad química y gestión del riesgo. El IMAP representa la actualización del programa de evaluación de sustancias químicas existentes (PEC)⁵. Bajo este marco, Australia espera evaluar aproximadamente 3000 químicos identificados como prioridad. Dentro de este grupo *Stage One Chemicals* se incluyen aquellas sustancias incluidas en el HVICL.

³ <http://www.nicnas.gov.au/chemical-information/new-chemical-assessments>

⁴ <http://www.nicnas.gov.au/chemical-information/imap-assessments/accelerated-assessment-of-industrial-chemicals-in-australia>

⁵ <http://www.nicnas.gov.au/chemical-information/pec-assessments>

3.2 Canadá HPV

La gestión de las sustancias químicas en Canadá se basa en las disposiciones del *Canadian Environmental Protection Act, 1999* (CEPA 1999) y adicionalmente en las políticas y planes tal como el *Chemicals Management Plan* (CMP) y el *Toxic Substances Management Policy* (TSMP).

En mayo del año 1994, *Environment Canada* publicó la denominada *Domestic Substance List* (DSL). El DSL es un inventario de aproximadamente 23000 sustancias producidas, importadas o utilizadas en Canadá en una cantidad igual o mayor a 100 kg en cualquier año calendario. Este inventario se basa en aquellas disponibles en el mercado entre 1 enero de 1984 y el 31 de Diciembre de 1986. Aquellas sustancias no incluidas en el DSL son denominadas “nuevas” en Canadá. Adicionalmente, Canadá dispone del listado denominado Non-Domestic Substances List (NDSL) la cual se basa en el inventario TSCA de los Estados Unidos.

Las sustancias que no están en DSL están sujetas a notificación. De la misma forma, las NDSL están sujetas a notificación, pero con una cantidad menor de requerimientos. El inventario DSL se va actualizando con aquellas sustancias nuevas que hayan sido evaluadas.

Las sustancias existentes en el DSL son categorizadas (lista de categorización disponible a partir del año 2006) por el gobierno para determinar la necesidad de mayor información, esta iniciativa es parte del programa *Existing Substance Evaluation Program*⁶. El objetivo final es evaluar todas las sustancias contenidas en el DSL, identificando, priorizando y evaluando los riesgos asociados a las sustancias existentes. Las sustancias identificadas para evaluación de riesgo son identificadas mediante 7 mecanismos:

1. Categorización en DSL,
2. Información proveída por la industria,
3. Prohibiciones o restricciones a nivel de provincias o internacionales,
4. Nominaciones públicas al Priority Substance List,
5. Evaluación de sustancias nuevas,
6. Sustancias de preocupación emergente,
7. Programas internacionales de evaluación o recolección de información.

Aun cuando Canadá ha participado del programa HPV de la OCDE, no fue posible acceder a una definición y estrategia en relación a este programa en documentos oficiales de *Environment Canada* o *Health Canada*.

Entre las iniciativas complementarias para la evaluación de sustancias citadas anteriormente, se encuentra El CMP⁷. Esta es una iniciativa del gobierno de Canadá que tiene como objetivo reducir los riesgos asociados a sustancias químicas en la población y el ambiente. Bajo esta iniciativa se evalúan sustancias que son priorizadas de acuerdo a los siguientes criterios:

- Persistencia, bioacumulación en la cadena alimenticia, toxicidad inherente al ambiente, presencia en mercado canadiense,

⁶ <http://www.ec.gc.ca/ese-ees/>

⁷ <http://www.chemicalsubstanceschimiques.gc.ca/plan/index-eng.php>

- Elevada toxicidad a humanos con una alta probabilidad de exposición en canadienses.

A su vez, bajo el TSMP⁸ se busca la eliminación (virtual) del ambiente de aquellas sustancias tóxicas que se originan principalmente de la actividad humana y que sean persistentes y bioacumulativas, así como también, la gestión de otras sustancias tóxicas y de preocupación a lo largo de su ciclo de vida para prevenir o minimizar su liberación al ambiente. Una sustancia candidata es evaluada científicamente en base a las siguientes consideraciones:

- Toxicidad de acuerdo a CEPA o equivalente,
- Origen predominantemente antropogénico,
- Bioacumulación,
- Persistencia.

Si todos estos criterios se cumplen, entonces, la sustancia se considera para su eliminación. Si no, la gestión apunta a la prevención o minimización de su liberación al ambiente.

3.3 Reglamentación Unión Europea

La actual legislación europea sobre sustancias y mezclas químicas es aplicable a todos los sectores de la industria a lo largo de toda la cadena de suministro. Fundamentalmente, las empresas son responsables de la seguridad de los productos que comercializan. La reglamentación se estructura en los siguientes dos ejes:

- El Reglamento 1907/2006 relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), y
- El Reglamento 1272/2008 (CLP) sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.

Adicionalmente, de manera sectorial, la reglamentación europea establece disposiciones específicas para la aprobación y comercialización de activos y productos biocidas bajo el Reglamento (UE) No 528/2012 y en el caso de los plaguicidas de uso agrícola el Reglamento (CE) 1107/2009 establece las disposiciones para su puesta en el mercado. El Reglamento (UE) No 649/2012 del consentimiento fundamentado previo sienta las bases de la aplicación de las disposiciones del Convenio de Rotterdam en la Unión Europea. Tanto el reglamento de biocidas como el reglamento (UE) No 649/2012 se articulan bajo el alero de la Agencia Europea de Sustancias Químicas (ECHA), mientras que aquellos productos bajo el alcance del Reglamento (CE) 1107/2009 lo hacen a través de los Estados Miembros en un proceso que puede involucrar la Comisión Europea y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

Anterior a la puesta en marcha del Reglamento REACH, el marco normativo europeo distinguía entre aquellas sustancias denominadas “nuevas” y “existentes”. Esta denominación se basó en la construcción de un inventario de sustancias comercializadas entre el 1 de Enero de 1971 y el 18 de Septiembre de 1981 de acuerdo a lo establecido en el Artículo 13 de la Directiva 67/548/CEE, enmendada por la Directiva 79/831/CEE, que se denominó EINECS (*European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances*). El número de sustancias existentes reportadas en el mercado ascendió a 100.106, de ellas, 30.000 se encontraban sobre 1 tonelada. Cualquier sustancia no listada

⁸ <http://www.ec.gc.ca/toxiques-toxics/default.asp?lang=En&n=2A55771E-1>

en EINECS se consideraba sustancia “nueva” y se requería enviar una notificación a la autoridad competente (Notification of New Substances – NONS) cuando su producción/importación era al menos 10 kg. A diferencia de las sustancias “nuevas”, las sustancias listadas en EINECS no estaban sujetas a notificación. Bajo el Reglamento (CEE) No 793/93 de Marzo de 1993 sobre evaluación y control de las sustancias existentes los fabricantes o importadores que hubiesen producido o importado en cantidades superiores a 1000 t/a al menos en una ocasión en los tres años anteriores y/o en el año siguiente debían presentar a la Comisión Europea la información en un plazo de 12 a 24 meses. A su vez, los fabricantes o importadores que hubiesen producido o importado una sustancia existente en cantidad superior a 10 t/a con un máximo de 1000 t/a debían presentar una cantidad menor de información (Tabla 1). Es importante considerar que los fabricantes e importadores no estaban obligados a efectuar pruebas con animales con el fin de presentar estos datos.

Tabla 1 Requerimientos técnicos bajo el Reglamento (CEE) No 793/93

REQUERIMIENTO	> 1.000 t/a	10 – 1.000 t/a
Nombre de la sustancia y su número de inventario EINECS	X	X
Cantidad de sustancia producida o importada	X	X
Información sobre usos razonablemente previsibles	X	X
Datos de propiedades fisicoquímicas	X	
Vías de propagación en el medio ambiente y destino final de la sustancia	X	
Información sobre ecotoxicidad	X	
Datos de toxicidad aguda y subaguda	X	
Datos sobre carcinogenicidad, mutagenicidad y/o toxicidad sobre la reproducción	X	
Información adicional pertinente para evaluar el riesgo	X	

A partir de la información presentada, la Comisión Europea confeccionaba periódicamente listas prioritarias de sustancias tomando en consideración efectos sobre la salud humana y el medio ambiente, exposición, ausencia de datos y trabajo en foros internacionales. Aquellos fabricantes e importadores que hayan facilitado información sobre una sustancia listada, quedaban sujetos a la obligación de proveer información inexistente. La evaluación del riesgo estaba a cargo de un Estado Miembro designado para este propósito.

En 1998, se cuestionó el nivel de protección de esta reglamentación debido a la falta de información sobre el impacto de un gran número de sustancias químicas sobre la salud humana y el ambiente. A partir de esta preocupación, el año 2001 la Comisión Europea emite el denominado *White Paper*⁹ delineando una nueva propuesta para el marco reglamentario de productos químicos en Europa. Algunos de los principales ejes de esta propuesta fueron:

- Responsabilizar a la Industria en cuanto al uso seguro de los productos,
- Establecer una implementación gradual con prioridad en las sustancias de mayor volumen o de mayor preocupación,

⁹ http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/documents/reach/archives/white-paper/introduction_en.htm

- Extender la responsabilidad a través de la cadena de manufactura,
- Aplicar un régimen de autorización a las sustancias de alta preocupación,
- Sustituir sustancia de alta preocupación,
- Estimular la innovación,
- Poner a disposición del público toda la información recopilada en el proceso de registro,
- Transparentar el sistema reglamentario,
- Maximizar los ensayos no-animales y disminuir el número de programas de ensayo.

Esta propuesta se tradujo en el Reglamento (CE) 1907/2006 relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos. El REACH establece la obligación de registrar las sustancias químicas puestas en el mercado sobre 1 tonelada al año a sus productores e importadores. Se establecieron 3 fechas límites para el registro (2010, 2013 y 2018) en función del tonelaje y clasificación de peligro de la sustancia química. Del mismo modo, los requerimientos del *dossier* de registro (información físico-química, toxicológica y ecotoxicológica) son proporcionales al volumen, incluyendo un reporte de seguridad química que incluye los denominados escenarios de exposición. De esta forma, a diferencia de la reglamentación anterior, es la industria responsable de proveer la información y evaluar los riesgos derivados del uso de productos químicos. El regulador, en tanto, tiene la misión de evaluar esta información.

La Evaluación de los registros (evaluación administrativa del dossier) está a cargo de la ECHA, Agencia que también evalúa las propuestas de ensayo para cumplir con las pruebas aplicables a los tonelajes más altos, si fuese necesario. Las autoridades competentes de los Estados Miembros, a su vez, seleccionan sustancias para una evaluación más en detalle (evaluación de la sustancia) e investigar aquellas de preocupación en base a un plan de trabajo denominado *Community Rolling Action Plan*. Si después de analizar los datos disponibles, el Estado Miembro considera que el uso de la sustancia representa un riesgo, puede adoptar las siguientes medidas:

- Propuesta de clasificación y etiquetado armonizado,
- Propuesta de sustancia identificada como “sustancia extremadamente preocupante”,
- Propuesta de restricción de la sustancia,
- Acciones fuera del ámbito de REACH como establecer valores límite o medidas voluntarias de la Industria.

El proceso de Autorización tiene como objetivo garantizar que los riesgos asociados a las sustancias de mayor preocupación estén apropiadamente controlados y que éstas sean progresivamente reemplazadas por alternativas técnica y económicamente factibles. Cuando el riesgo no puede ser adecuadamente controlado, la autorización es otorgada cuando existe un beneficio general para la sociedad y no existan alternativas. Las sustancias que cumplen los criterios de alta preocupación se incluyen en la denominada *Candidate List* para su inclusión eventual en el Anexo XIV de REACH (sustancias sujetas a Autorización). La ECHA establece prioridad a las sustancias de la lista de sustancias candidatas con el fin de determinar cuáles deben incluirse en la lista de autorización. La Comisión Europea finalmente decide qué sustancias serán incluidas en la lista de Autorización. La prioridad se determina considerando:

- Propiedades PBT (Persistencia, Bioacumulación y Toxicidad) o vPvB (Muy persistente, muy bioacumulable), o

- Uso disperso, o
- Volumen

La lista de prioridades se establece cada 2 años. Una sustancia no priorizada en una ronda no implica que se descarta de la lista de recomendación para inclusión en la lista de sustancias sujetas a Autorización. Para transparentar y objetivar el proceso de priorización se han definido escalas numéricas (Tabla 2).

Tabla 2 Escala de puntaje para la priorización de sustancias de alta preocupación (ECHA).

PARÁMETRO	PUNTAJE
PROPIEDADES INTRÍNSECAS	
Carcinogénica 1A o 1B o Mutagénica 1A o 1B o Reprotox 1A o 1B y/o sustancias de preocupación equivalente (ej. Disruptores endocrinos)	1
Sustancias de preocupación equivalente (disruptores endocrinos)	7
Sustancias persistentes, bioacumulables y tóxicas y sustancias muy persistentes y muy bioacumulables	13
Sustancias persistentes, bioacumulables y tóxicas y carcinogénica o mutagénica o reprotox	15
Sustancias muy persistentes y muy bioacumulables y carcinogénica o mutagénica o reprotox	15
VOLUMEN	
< 10 t/a	3
10 < 100 t/a	6
100 < 1.000 t/a	9
1.000 < 10.000 t/a	12
≥ 10.000 t/a	15
USO	
Industrial	5
Profesional	10
Formulación	12
Consumidor	15

El CLP establece los criterios de clasificación y etiquetado de productos químicos, basado en aquellos principios armonizados por las Naciones en el GHS, y que es legalmente vinculante en los Estados Miembros de la EU. Uno de los principales objetivos del CLP es determinar si una sustancia o mezcla presenta propiedades que lleven a clasificarla como peligrosa. Una vez determinada dichas propiedades, los fabricantes, importadores, usuarios intermedios y distribuidores deben comunicar los peligros a lo largo de la cadena de suministro, incluidos los consumidores, a través de la etiqueta. El CLP además establece las normas generales de envasado. La ECHA establece y mantiene un catálogo de clasificación y etiquetado en forma de base de datos y recibe las notificaciones sobre este catálogo, así como también, recibe las propuestas para la clasificación armonizada de una sustancia química por parte de las autoridades competentes de los Estados Miembros y de la Industria presentando un dictamen sobre dichas propuestas.

Ciertas obligaciones del Reglamento REACH están asociadas la clasificación de sustancias y mezclas, entre otras:

- Sustancias fabricadas o importadas en cantidades iguales o superiores a 10 t/año, se debe evaluar la exposición y caracterizar el riesgo con el fin de elaborar el informe de seguridad química para aquellas sustancias que cumplan los criterios de clasificación;
- Una sustancia o mezcla que cumpla los criterios de clasificación, deberá elaborar una ficha de datos de seguridad;

Las disposiciones del CLP se aplican a todas las sustancias o mezclas cuya comercialización y uso están controlados por el Reglamento (UE) No 528/2012 sobre productos biocidas o por el Reglamento (CE) No 1107/2009 sobre productos fitosanitarios. Esto implica en la práctica que las sustancias activas de los productos biocidas o fitosanitarios (mezclas) deben clasificarse y etiquetarse según el CLP.

3.4 U.S. HPV Challenge Program

El Toxic Substance Control Act (TSCA) de 1976 es la principal legislación relacionada a la producción, importación, uso y distribución de sustancias químicas en los Estados Unidos. De manera sectorial, la reglamentación norteamericana se apoya también en el *Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act* (FIFRA), el *Federal Food, Drug and Cosmetic Act* (FFDCA) y el *Occupational Safety and Health Act* (OSHA Act).

Entre las disposiciones del TSCA, se establece que la US EPA debe compilar, mantener al día y publicar una lista de las sustancias químicas producidas o procesadas en los Estados Unidos. A este listado se le denomina el Inventario TSCA (TSCA Inventory), el cual fue compilado por primera vez en 1977 bajo el denominado *Inventory Update Rule* (IUR). Las sustancias no listadas en el Inventario TSCA (y no exentas) son consideradas sustancias “nuevas” y están sujetas a los requerimientos de la sección 5 del TSCA denominada *Premanufacturing Notice* (PMN). Esta PMN busca obtener información relacionada a la identidad de la sustancia, volumen de producción, usos, exposición y destino ambiental. En cuanto a información sobre efectos a la salud humana y al medio ambiente, el PMN no requiere de generación de ensayos, excepto, aquella ya información disponible. Sin embargo, bajo TSCA la US EPA tiene la autoridad de emitir reglamentación para solicitar a productores, importadores y procesadores llevar a cabo ensayos sobre la sustancia o mezcla cuando se considera que existe información insuficiente para evaluar los efectos de la producción, puesta en el mercado, procesamiento, uso o disposición de la sustancia o mezcla sobre la salud humana o en el medio ambiente y que pueda ser razonablemente estimada o determinada. En otras palabras, la US EPA puede solicitar información toxicológica y/o ecotoxicológica sobre sustancias existentes o nuevas cuando existe información insuficiente o cuando se estime que la sustancia o mezcla puede causar un riesgo no aceptable.

Adicionalmente el TSCA, requiere a los productores, importadores o procesadores de sustancias que informen a la US EPA de cualquier uso que se estime sea un “nuevo uso significativo” (*Significant New Use Rule*, SNUR). No se ha descrito el criterio, sin embargo, se considera como factores el volumen de producción o procesamiento, cambio en la forma de exposición humana o ambiental, aumento en la magnitud o duración de la exposición humana o ambiental o cambios en los métodos de manufactura, procesamiento, distribución o disposición.

TSCA no incluye en la definición de sustancia química a las mezclas, los plaguicidas, tabaco y producto de tabaco, materiales regulados bajo la reglamentación de energía atómica, armas y

municiones, alimentos, aditivos alimentarios, drogas, cosméticos y dispositivos reglamentados por la FDA.

Adicionalmente, la US EPA considera el establecimiento de acuerdos voluntarios con la Industria bajo los denominados Enforceable Consent Agreements (ECAs)/Voluntary Testing Agreements (VTAs). En este marco, el año 1998, la US EPA en conjunto con *Environmental Defense* (ED), el *American Petroleum Institute* (API) y el *American Chemistry Council* lanzaron el *HPV Challenge*, un programa voluntario para la compilación y generación de información de efectos a la salud humana y el medio ambiente de sustancias producidas o importadas en Estados Unidos por sobre 453 toneladas (1 millón de libras) basado en los volúmenes reportados en 1990 en el IUR. Bajo este programa la Industria se comprometió a patrocinar alrededor de 2200 sustancias de alto volumen. Dado que al momento de lanzar el programa HPV, el IUR contemplaba la información de sustancias orgánicas excluyendo químicos inorgánicos y polímeros, excepto bajo ciertas circunstancias, solo este tipo de sustancias fueron consideradas en el programa inicialmente. La información a compilar o generar bajo este programa corresponde a aquella acordada bajo el programa OECD HPV en el *Screening Information Data Set*. Es importante considerar que, aunque este programa se genera como iniciativa voluntaria, la US EPA puede requerir información de los efectos sobre la salud humana y el medio ambiente.

Actualmente, la US EPA compila sistemáticamente información sobre sustancias producidas o importadas en los Estados Unidos bajo el Chemical Data Reporting (CDR)¹⁰ descrito en la sección 8 del TSCA, reemplazando el denominado Inventory Update Rule (IUR) señalado anteriormente. Bajo el CDR, la US EPA compila información básica relacionada a exposición acerca de los tipos, cantidades y usos de estas sustancias químicas. De esta forma, los productores e importadores deben reportar cada 4 años las sustancias químicas en un volumen igual o mayor a 25.000 libras (aproximadamente 11 toneladas) para un año específico de reporte. Ciertas sustancias bajo el alcance del TSCA están sujetas a reporte a partir de 2.500 libras (aproximadamente 1,1 tonelada). La información obtenida permite a la EPA priorizar las sustancias químicas para propósitos de identificar los efectos sobre la salud humana y el medio ambiente y se pone a disposición del público (información no confidencial) en la base de datos *Chemical Data Access Tool*¹¹.

En su próxima versión (2016), productores e importadores deberán reportar los volúmenes para los años calendario 2012, 2013, 2014 y 2015 en periodo comprendido entre el 1 de junio de 2016 y 30 de Septiembre del mismo año. Solo para las cantidades reportadas el año 2015 es necesario incorporar la información de manufactura, procesamiento y uso (Anexo 1). Para esta edición se contempla un periodo de prueba de la plataforma electrónica (eCDX) durante el mes de noviembre del año 2015.

Actualmente, la US EPA contempla la evaluación de sustancias químicas bajo el denominado *TSCA Work Plan Chemicals*¹² en el que se identifican sustancias en función de la exposición de humanos y

¹⁰ <http://www2.epa.gov/chemical-data-reporting>

¹¹ http://java.epa.gov/oppt_chemical_search/

¹² <http://www2.epa.gov/assessing-and-managing-chemicals-under-tsca/assessments-tsca-work-plan-chemicals#overview>

el ambiente. Si se evidencia un riesgo potencial, luego de una revisión de pares y comentarios del público, se ejercen las necesarias acciones de reducción de riesgo, entre ellas:

- Acciones regulatorias
 - Significant New Use Rules (TSCA, sección 5),
 - Consent Orders (TSCA, sección 5)
 - Limitaciones a la producción, procesamiento y uso (TSCA, sección 6)
- Acuerdos voluntarios.

3.5 Japan HPV Challenge Program

El *Japanese Chemical Substances Control Act* se promulgó en el año 1973 e imponía una evaluación previa a la puesta en el mercado de las sustancias “nuevas” manufacturadas o importadas en Japón. Por el contrario, aquellas disponibles en el mercado en esa fecha no estaban sujetas a tal requerimiento. Por esta razón, iniciativas complementarias han abordado la evaluación de sustancias químicas existentes. En los 90, Japón adhirió al programa HPV de la OCDE. El año 2005 el Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar, el Ministerio de Economía, Comercio e Industria y el Ministerio del Ambiente desarrollaron una iniciativa que buscaba acelerar y facilitar la recolección de información sobre sustancias químicas de alto volumen. Esta iniciativa, en conjunto con la Industria, se denominó *Japan HPV Challenge Program*. El programa se focalizó en sustancias orgánicas producidas o importadas en Japón sobre 1000 t/año, aun cuando no excluyó sustancias de menor volumen, excluyendo aquellas ya cubiertas por el programa de OCDE. La información compilada se basó en el OECD SIDS. Buscaba contribuir al OECD-HPV cuando fuese posible y la información recopilada bajo este programa se encuentra disponible públicamente. El programa se extendió hasta el año 2013. La definición de los HPV se basó en un levantamiento realizado el año 2001 por METI y las sustancias fueron seleccionadas en función de aquellas relevantes para Japón en función de monitoreo ambiental. En la práctica, la Industria patrocinaba las sustancias generando información de acuerdo a SIDS y la enviaba al gobierno para su revisión. El gobierno evaluaba la información obtenida, desarrolló una base de datos de sustancias químicas existentes y generó la denominada “target substances for priority information collection” (TSPIC).

645 sustancias fueron incluidas en el TSPIC, de ellas 125 sustancias fueron incluidas en *Japan Challenge Program* en los que el sector privado y público participó. Adicionalmente, se incluyeron 6 sustancias seleccionadas por patrocinadores, totalizando 131 sustancias. Bajo este programa, se formaron 31 consorcios donde se intercambiaba la información entre compañías. El *Japan Challenge Program* fue finalizado en el año 2012. Información disponible en él la base de datos Japan Chemicals Collaborative Knowledge Database (J-Check)¹³

Debido a que *Japanese Chemical Substances Control Act* fue enmendado en 2009, bajo esta enmienda a partir del año 2011 los importadores y productores de sustancias químicas deben notificar las sustancias químicas sobre una tonelada las cantidades de manufactura/importación/uso. Si no se dispone de suficiente información sobre sus peligros, la autoridad puede solicitar a los productos/importadores la información.

¹³ <http://www.safe.nite.go.jp/jcheck>

3.6 International Council of Chemical Associations

El *International Council of Chemical Associations* (ICCA) en conjunto con la OECD, desarrolló en el año 1998 la *High Production Volume Initiative*. La responsabilidad sobre la generación de información SIDS recayó sobre las empresas productoras de las sustancias químicas de alto volumen. Bajo esta iniciativa, se incluyó trabajo directo entre la ICCA y el HPV OCDE, sin intermediar un país miembro. Dada la evolución de los programas reglamentarios internacionales la iniciativa se extendió hasta el año 2010.

Como una evolución de los programas voluntarios de la ICCA, en el año 2006 se lanzó una nueva iniciativa denominada *Global Product Strategy* (GPS)¹⁴ programa bajo el cual la industria química desarrolla evaluaciones de peligro y riesgo de sustancias químicas en el mercado disponibles para el público en general.

¹⁴ <http://www.icca-chem.org/en/Home/Global-Product-Strategy/>

4. FORTALEZAS Y DEBILIDADES DE LOS PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN HPV

Tabla 3 Fortalezas y debilidades de los programas de investigación HPV.

	AUSTRALIA	CANADÁ	EU	US	JAPÓN
Volumen HPV	1.000 t/a	No establece un criterio, todas las sustancias existentes son consideradas por igual.	1.000 t/año	500 t/año	1.000 t/año
Alcance/Exenciones HPV	Exime sustancias con uso no industrial, sustancias presentes naturalmente en el ambiente, polímeros.	No disponible	Sustancias de baja preocupación (Anexo II Reglamento 793/93). El sistema actual cubre todas las sustancias químicas, excluidas polímeros, sustancias de baja preocupación, sustancias que se presentan naturalmente en el ambiente.	Exime: los plaguicidas, tabaco y producto de tabaco, materiales regulados bajo la reglamentación de energía atómica, armas y municiones, alimentos, aditivos alimentarios, drogas, cosméticos y dispositivos reglamentados por la FDA	Sustancias orgánicas bajo su alcance.
Naturaleza del programa HPV	Programa de gobierno	No disponible	Reporte y envío de información obligatorio.	Programa voluntario	Programa voluntario
Debilidades	Dado el espíritu del programa, el avance en la evaluación de sustancias es bajo. A la fecha se encuentran disponibles 40 evaluaciones.	El programa CEPA 1999 es una iniciativa llevada a cabo por el gobierno, lo que transfiere la carga administrativa al sector público.	El actual programa es de elevado costo administrativo y técnico. Requiere de un marco reglamentario robusto. El programa anterior, demostró ser lento y no generó suficiente información sobre sustancias HPV existentes.	No se describe un criterio objetivo para la selección y/o priorización de sustancias.	Programa focalizado en sustancias orgánicas.
Fortalezas	Aun cuando el volumen HPV es 1000 t/a, el inventario contempla el reporte de sustancias sobre 100 t/a. El reporte	El programa CEPA pretende evaluar todas las sustancias en el DSL, independiente del volumen de	Para agilizar la generación de información y evaluación de todas las sustancias químicas, traspasa la	Programa voluntario (iniciativa público-privada), sin embargo, la US EPA tiene facultades para exigir la generación	Programa bajo una iniciativa público-privada. Información diseminada públicamente. No excluyen sustancias de

	<p>por banda de tonelaje permite mantener confidencial de los volúmenes reales de producción, información sensible para la diseminación de la información. Permite solicitar confidencialidad sobre nombre de la sustancia, CAS, uso y categoría industrial.</p>	<p>producción/importación. La priorización de sustancias se basa en un enfoque basado en riesgo y no en volumen (categorización).</p>	<p>responsabilidad a la Industria. Establecimiento de una escala numérica para la priorización de sustancias de alta preocupación. El tipo de información requerida es mayor al del programa OCDE HPV.</p>	<p>de información. Información diseminada públicamente.</p>	<p>volumen inferior. El programa es equivalente en términos de recolección de información al de la OCDE. La selección de sustancias se basa en parámetros de monitoreo local.</p>
--	--	---	--	---	---

5. PROPUESTA DEFINICIÓN CHILE

Es importante reconocer que el programa HPV, como tal, ha evolucionado de acuerdo a las tendencias actuales sobre registro y notificación de sustancias químicas. Para implementar un programa similar en Chile se considera necesario desarrollar un programa que pueda ser sustentable en el tiempo y ajustado al contexto nacional y de interés en el contexto internacional.

Dado que nuestra reglamentación no hace distinción entre sustancia existente y nueva, una definición de sustancia química de alto volumen (SQAV) en Chile no puede considerar este concepto en la actualidad. Adicionalmente, el actual programa CoCAP de la OCDE no se restringe a sustancias existentes o nuevas.

Considerando, además que, el espíritu del programa HPV/CoCAP a nivel internacional es la generación de una cantidad mínima de información que permita hacer un juicio informado y establecer recomendaciones de investigación adicional, la definición local no debería considerar aquellas sustancias en que la reglamentación local exija *per se* la entrega de esta información a la autoridad incluida a modo de referencia en el Anexo 2 de este documento.

Nuestro país es, principalmente, un productor de sustancias inorgánicas y en sus respectivos mercados es un actor relevante en minería metálica y minería no metálica. Considerando, este antecedente, sería injustificado restringir el alcance de las SQAV a las sustancias orgánicas tal como en otros países.

En función de lo anterior, se propone la siguiente definición de sustancia química de alto volumen en Chile.

SUSTANCIA QUÍMICA DE ALTO VOLUMEN (SQAV)

Sustancia química producida o importada en Chile, en un volumen total igual o mayor a 1000 t/año exceptuando los activos plaguicidas de uso agrícola, activos farmacéuticos, aditivos alimentarios, productos cosméticos, materiales radioactivos y polímeros.

En espíritu, esta definición tiende a incluir las sustancias de uso industrial, alcance compartido bajo el programa CoCAP, y segmento de productos para los cuales nuestra reglamentación no establece requerimientos de información de efectos a la salud humana y medio ambiente y, por lo tanto, importante de caracterizar.

De manera complementaria, se sugiere incluir dentro de los productos de esta consultoría las siguientes definiciones que sustentarían el concepto anterior.

Sustancia química

Un elemento químico y sus compuestos naturales o los obtenidos por algún proceso industrial, incluidos los aditivos necesarios para conservar su estabilidad y las impurezas que inevitablemente produzca el proceso, con exclusión de todos los disolventes que puedan separarse sin afectar a la estabilidad de la sustancia ni modificar su composición.

Esta definición se encuentra incluida en el Artículo 3 del REACH y el Artículo 2 del CLP.

Polímero

De acuerdo a la definición de la OCDE¹⁵ y la Agencia Europea de Productos Químicos (ECHA), polímero, se define como *una sustancia constituida por moléculas caracterizadas por una secuencia de uno o más tipos de unidades de monómeros. Dichas moléculas deben repartirse en una distribución de pesos moleculares en la que las diferencias de peso molecular puedan atribuirse principalmente a diferencias en el número de unidades monoméricas. Un polímero incluye los siguientes elementos:*

a) una mayoría ponderal simple de moléculas que contienen al menos tres unidades monoméricas que contienen al menos tres unidades monoméricas enlazadas covalentemente a otro unidad monomérica u otro reactante, al menos;

b) menos de una mayoría ponderal simple de moléculas del mismo peso molecular.

Bajo la definición de la OCDE, el monómero corresponde a la molécula que es capaz de formar enlaces covalentes con una o dos moléculas iguales o distintas bajo condiciones adecuadas para la formación del polímero utilizada en el proceso en particular.

¹⁵ <http://www.oecd.org/env/ehs/oecddefinitionofpolymer.htm>

6. COMPETENCIAS LEGALES DE LAS DISTINTAS ORGANIZACIONES GUBERNAMENTALES DEL PAÍS EN MATERIA DE GESTIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS

En términos reglamentarios, nuestro país recopila estadísticas de importación de las sustancias químicas listadas en la Resolución 714 del Ministerio de Salud, mientras que para la importación y producción de sustancias denominadas esenciales para la elaboración de drogas ilícitas lo hace el Ministerio del Interior, los explosivos y sustancias precursoras controladas por la Dirección General de Movilización Nacional. El Servicio Nacional de Aduanas también posee un registro de importación, sin embargo, la denominación de estos productos se basa en las denominadas glosas aduaneras que no permiten, en todos los casos, identificar la sustancia mediante un identificador específico (tal como nombre y/o número CAS) ni la concentración en caso de mezclas. En el caso de la producción local de sustancias químicas, salvo las sustancias bajo el alcance del Ministerio del Interior y de la Dirección General de Movilización Nacional, no se dispone de un registro sistemático de su producción. En este sentido, se han desarrollado iniciativas puntuales tal como el perfil químico nacional y su actualización que han recopilado información sobre sustancias químicas de producciones locales e importadas en gran volumen.

A continuación, se describen en detalle las competencias de las organizaciones gubernamentales en materia de gestión de sustancias químicas.

Dada la naturaleza de las competencias institucionales, el análisis posterior de los sistemas de registro e información se presenta de manera independiente. A efectos de este informe se considera “sistema de registro” todo sistema de gestión de productos químicos en el que se provea a la autoridad de información técnica en temáticas asociadas a efectos sobre la salud humana y el ambiente. Por otra parte, bajo “sistema de información” se comprende todo sistema de gestión en los que se presenta información sobre identificación, logística y/o de inventarios y que por su naturaleza no requiera de entrega de información de efectos a la salud humana y al medio ambiente, independiente de la terminología utilizada en la reglamentación específica.

En nuestro país, la gestión de las sustancias químicas se encuentra desagregada, en distintos niveles del ciclo de vida, entre diversas instituciones públicas. El nivel de competencia y atribuciones de las instituciones está ligada a la naturaleza del servicio. Sin perjuicio de lo anterior, y a grandes rasgos, el Código Sanitario establece que corresponde al Ministerio de Salud y a sus Secretarías Regionales establecer las condiciones para la producción, importación, comercialización, transporte, distribución, uso y disposición de las sustancias tóxicas y productos peligrosos. Adicionalmente, el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) tiene competencias sobre productos con uso plaguicida en el área agrícola y fertilizantes, el Instituto de Salud Pública sobre los plaguicidas de uso sanitario, desinfectantes y sanitizantes, la Dirección General de Movilización Nacional (DGMN) sobre sustancias explosivas y precursores de explosivos y el Ministerio del Interior en relación a los precursores de drogas.

A continuación, se presenta una descripción general de competencias de cada una de estas instituciones relativas a la gestión de productos químicos y su marco normativo, señalando sus respectivos alcances.

Tabla 4 Instituciones con atribuciones en la gestión de sustancias químicas

A	MINISTERIO DE SALUD	F	MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
B	MINISTERIO DE AGRICULTURA	G	MINISTERIO DEL TRABAJO
C	MINISTERIO DEL INTERIOR	H	MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE
D	MINISTERIO DE DEFENSA	I	MINISTERIO DE TRANSPORTE Y TELECOMUNICACIONES
E	MINISTERIO DE ECONOMÍA	J	MINISTERIO DE HACIENDA

6.1.1 MINISTERIO DE SALUD

El Código sanitario, es el cuerpo marco que establece la normativa relacionada con el fomento, protección y recuperación de la salud de los habitantes de Chile, con excepción de los temas sometidos a otras leyes. El primer Código Sanitario de Chile fue publicado el 22 de junio de 1918, e instauró una autoridad unipersonal de salud con facultades ejecutivas y creó la Dirección General de Sanidad y otros organismos sanitarios. El segundo código fue publicado el 15 de mayo de 1931. En 1967, sufrió una reformulación completa transformándose en el Código actual, que rige desde el 31 de enero de 1968, aunque ha sido sometido a posteriores modificaciones.

El Ministerio de Salud norma, supervisa y asesora en la formulación de las políticas en materia de salud ambiental y del trabajo, elaborando planes y programas nacionales dirigidos a proteger la salud de la población y la de los trabajadores de los riesgos asociados a las sustancias químicas.

Una de las actividades que realiza es reglamentar, en distintas etapas del ciclo de vida, las sustancias peligrosas para la salud, los plaguicidas de uso sanitario y doméstico, desinfectantes y sanitizantes y parcialmente los de uso agrícola. Además, entrega directrices nacionales a las Autoridades Sanitarias Regionales, en estas materias.

Bajo la Resolución Exenta 714¹⁶ del año 2002, modificada el año 2006, se establece la lista de aproximadamente 1400 sustancias peligrosas para la salud (actualmente en revisión). El listado de sustancias químicas puras, incluye las mezclas y soluciones de éstas, así como plaguicidas, ingredientes activos y de manera genérica las formulaciones, excepto las destinadas a uso agrícola. Esta resolución se articula con las atribuciones del Servicio Nacional de Aduanas que participa fiscalizando las importaciones del listado de sustancias bajo la Resolución 714 y los plaguicidas de uso sanitario y agrícola previo a su internación al país. El rol de Aduanas es verificar que la documentación de los productos cuente con las autorizaciones de los servicios correspondientes, conforme lo establece la Ley No 18.164 es sus artículos 1° y 2°, donde se indica que las instituciones con las cuales el Servicio Nacional de Aduana se relaciona para dar la aprobación de internación tanto a los plaguicidas de uso agrícola como domisanitario y sustancias peligrosas son el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) y el Ministerio de Salud. Para estos efectos, el Ministerio de Salud a través de las Secretarías Regionales emite el denominado “certificado de autorización aduanera”, este certificado autoriza el retiro y transporte de los productos o sustancias químicas peligrosas desde los recintos aduaneros, a la bodega o depósito autorizado donde serán almacenados.

¹⁶ <http://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=201185>

Complementariamente y por separado, se emite la “autorización de uso y disposición” para sustancias químicas peligrosas importadas. Esta autorización permite el uso, venta, consumo, cesión y disposición de la sustancia.

Sobre la Salud Ocupacional, el MINSAL establece las condiciones para el desarrollo de ambientes de trabajos saludables y seguros en lo que concierne a la salud física y mental de los trabajadores a través del Reglamento “Sobre Condiciones Sanitarias y Ambientales Básicas en los lugares de Trabajo Núm. 594 de 1999 modificado por el Decreto NO 123 de 2015”. Este cuerpo legal entrega los Indicadores biológicos y los Límites de Tolerancia Biológica para los trabajadores expuestos a plaguicidas y otras sustancias químicas (Título V), junto con los límites de estas sustancias en el ambiente laboral.

La vigilancia de las intoxicaciones agudas por plaguicidas en Chile se inició en el sector público de salud el año 1993, con participación voluntaria de algunos Servicios de Salud del país conformando la “Red de Vigilancia Epidemiológica en Plaguicidas (REVEP). A partir del año 1999, la vigilancia la asume el Departamento de Epidemiología de la División de Planificación Sanitaria del MINSAL, impulsando una legislación para la notificación obligatoria inmediata de la sospecha de intoxicación por plaguicidas, logrando en agosto del año 2004 la publicación del D.S. NO 88 que “Aprueba reglamento de notificación obligatoria de las intoxicaciones agudas con pesticidas”. Desde el año 2005, como resultado de la Reforma de Salud, la REVEP se incorpora en las respectivas Seremis de Salud del país. Para fortalecer el Decreto Supremo No 88 del año 2004, se publica la Norma General Técnica No 92 del año 2007 que entrega los procedimientos para la realización de Vigilancia de Intoxicaciones Agudas por Plaguicidas. La norma técnica facilita y fortalece el quehacer de los centros de atención de urgencia frente a estos casos de intoxicaciones, como también unifica los instrumentos de notificación, información e investigación de los casos notificados. La vigilancia que se realiza corresponde a una modalidad universal, en la cual se incluyen las intoxicaciones de origen laboral, accidental no laboral, voluntaria (con fines suicidas) y provocada (con fines homicidas, o de causar daño). Su notificación se realiza a través de los instrumentos validados por los equipos de la red.

Otra de las actividades de responsabilidad del Ministerio de Salud y que delega al Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) es la vigilancia de los residuos de plaguicidas en los alimentos, para lo cual establece líneas base, actualiza información y aporta antecedentes científicamente válidos para realizar evaluaciones de riesgo. Además, apoya la función fiscalizadora de las Secretarías Regionales Ministeriales (SEREMIs) de Salud del país, entidades que ejercen funciones reguladoras, normativas y fiscalizadoras en el área de su competencia en las regiones del país. La Resolución Exenta NO 33 de 2010, modificada por la Resolución NO 762 del año 2011, “Fija tolerancias máximas de residuos de plaguicidas en alimentos”. El monitoreo de residuos de plaguicidas en alimentos están en directa relación con la actualización del Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA), lo cual puede implicar modificaciones, ampliaciones y eventuales cancelaciones de límites máximos de residuos vigentes. Este programa de vigilancia para residuos en alimentos de consumo interno (frutas y hortalizas, cereales, alimentos infantiles, leche y huevos) utiliza el laboratorio del ISP, establecido como de referencia nacional para alimentos, para el análisis de las muestras captadas. Una gran limitante para cuantificar el riesgo que se puede generar por la presencia de residuos de plaguicidas en alimentos corresponde a la inexistencia en el país de una dieta nacional, necesaria para determinar

las diferentes fuentes de origen del contaminante, y por tanto, la cuantificación de la exposición real de la población al residuo de plaguicida detectado.

De acuerdo con el reglamento, D. S. No 157/2005, los plaguicidas de uso sanitario y doméstico son aquellos productos “destinados a combatir vectores sanitarios y plagas en el ambiente de las viviendas, ya sea en el interior o exterior de éstas, edificios, industrias y procesos industriales, bodegas, contenedores, establecimientos educacionales, comerciales, parques, jardines y cementerios y en medios de transporte terrestre, marítimo o aéreo, así como repelentes o atrayentes no aplicados directamente como pinturas, barnices, productos para el aseo y demás”. Esta definición incluye a los desinfectantes y sanitizantes, por ejemplo, hipoclorito de sodio, amonio cuaternario, aldehídos y ácido peracético, entre otros.

Se define como *desinfectantes* de uso sanitario y doméstico como aquel producto que no es de uso humano y que por proceso físico o químico mata, inactiva o inhibe el crecimiento de microorganismos tales como: bacterias, virus, protozoos y otros. Por su parte, un *sanitizante* es aquel producto que disminuye o atenúa el crecimiento de microorganismos del recuento total inicial. Es rol del Ministerio de Salud la vigilancia de estos productos en cuanto a la autorización de importación, producción y uso.

El almacenamiento de sustancias químicas peligrosas se encuentra regulado por el Decreto 78¹⁷ del 11 de septiembre del 2010, modificado por última vez el 26 de septiembre del año 2015. Este reglamento establece las condiciones de seguridad de las instalaciones de almacenamiento de sustancias peligrosas. Bajo este reglamento, se consideran sustancias peligrosas aquellas que cumplen los criterios de clasificación de la Norma Chilena NO 382. Quedan excluidos de la aplicación de este reglamento las sustancias radioactivas, los explosivos o sustancias químicas controladas por la Ley 17.798, combustibles, sustancias infecciosas, entre otras.

La disposición de residuos peligrosos se regula de acuerdo a las disposiciones del Decreto 148 del 16 de junio del año 2004, del Ministerio de Salud. Este reglamento establece las condiciones sanitarias y de seguridad mínimas a que debe someterse la generación, tenencia, almacenamiento, transporte, tratamiento, reciclaje, disposición final y otras formas de eliminación de residuos peligrosos. Bajo este Decreto, se define como residuo a toda sustancia, elemento u objeto que el generador elimina, se propone eliminar o está obligado a eliminar. A su vez, un residuo peligroso es todo residuo o mezcla de residuos que presenta riesgo para la salud pública y/o efectos adversos al medio ambiente, ya sea directamente o debido a su manejo actual o previsto, como consecuencia de presentar algunas de las características señaladas en el artículo 11 del D.S. NO 148/2004 del Ministerio de Salud.

Se considera residuo peligroso aquellos que cumplan, al menos, una de las siguientes características: toxicidad aguda, crónica, extrínseca, inflamabilidad, reactividad o corrosividad.

Basta la presencia de una de estas características en un residuo o mezcla de ellos para que sea calificado como residuo peligroso.

Complementariamente el Decreto Supremo No 6 del 2009 MINSAL reglamenta el manejo de residuos de establecimientos de atención de salud. El artículo 3º del reglamento define los residuos

¹⁷ <http://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1016975>

generados en establecimientos de atención de salud y su clasificación en categorías según su riesgo. En base a esta clasificación, los residuos peligrosos se encuentran en la Categoría 1. Por otro lado, el artículo 4º del reglamento define que los residuos peligrosos son aquellos que presentan una o más características de peligrosidad definidas en el Decreto Supremo No 148/2003, del Ministerio de Salud, que aprueba el Reglamento Sanitario sobre Manejo de residuos peligrosos y señala los residuos peligrosos que se presentan con más frecuencia en establecimientos de atención de salud. Finalmente, el artículo 39 de dicho reglamento indica que el transporte de residuos peligrosos deberá realizarse conforme al Decreto Supremo No 298 de 1994, del Ministerio de Transportes y Telecomunicaciones, o el que lo reemplace, y a lo especificado en el Reglamento Sanitario sobre Manejo de Residuos peligrosos

Otras materias que regula el Ministerio de Salud se incluyen en la Tabla 5.

Tabla 5 Otras materias de competencia del Ministerio de Salud

NORMATIVA	AÑO	APLICACIÓN
Decreto 144	1985	Reglamenta producción, distribución, expendio y uso de los solventes orgánicos nocivos para la salud que indica.
Decreto 374	1997	Fija el límite máximo permisible de plomo en pinturas que indica.
Reglamento 105	1998	Empresas aplicadores de Pesticidas de Uso Sanitario y Doméstico”. Establece los requisitos que deben cumplir empresas que ofrecen y ejecutan desinfección o sanitización, desinsectación o desratización en viviendas colectivas o unifamiliares, edificios, parques y jardines, industrias, establecimientos comerciales y en medios de transporte terrestre, marítimo o aéreo, sean éstas públicas o privadas.
D.S. No 754	1998	Prohíbe el uso de tolueno en adhesivos y pegamentos que indica.
D.S. No 656	2000	Prohíbe el uso del asbesto en productos que indica
D.S. No 114	2005	Aprueba el reglamento sobre seguridad de los juguetes.
D.S. No 5	2010	Aplicaciones aéreas de plaguicidas en el país, el cual entrega las condiciones en las cuales debe efectuarse una aplicación por vía aérea de plaguicidas de modo de proteger la salud de los trabajadores y población en general que tenga contacto con la misma.
D.S. No 158	2015	Reglamento sobre condiciones para la seguridad sanitaria de las personas en la aplicación terrestre de plaguicidas agrícolas en todo el país”. Esta norma se refiere a las condiciones de seguridad necesarias para el resguardo de la salud y la integridad física y sanitaria de las personas que ejecutan aplicación de plaguicidas y de aquellas que viven en los alrededores del lugar de aplicación o pueden recibir sus efectos

6.1.2 MINISTERIO DE AGRICULTURA

El Ministerio de Agricultura a través del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), reglamenta y controla los aspectos relacionados con los plaguicidas de uso agrícola, según el Decreto sobre Protección Agrícola, DL No 3.557 del año 1980 en su Título III , y su Ley Orgánica No 18.755; la cual establece las regulaciones, restricciones y prohibiciones relacionadas con la autorización (registro), fabricación, importación, exportación, distribución, venta y aplicación de estos productos, siendo el

propósito final propender el empleo correcto y eficiente de ellos en la protección de los cultivos, con riesgo mínimo para la salud humana, flora, fauna y medio ambiente.

El Decreto Ley No 3557 de 1980 del SAG “Disposiciones sobre Protección Agrícola”, en su Título III, se trata sobre las materias asociadas a la “Fabricación, comercialización y aplicación de plaguicidas y fertilizantes”. A partir de esta norma marco se derivan una serie de Resoluciones Exentas que establecen requerimientos específicos relativos a la autorización de plaguicidas de uso agrícola, etiquetado, clasificación toxicológica e ingreso de estos productos, entre otras. Las más relevantes se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6 Resoluciones relativas a la autorización de plaguicidas

NORMATIVA	AÑO	APLICACIÓN
D.S. No 3	1982	Establece requisitos para efectuar labores de muestreo y análisis de plaguicidas y fertilizantes bajo convenio.
Resolución No 386	1983	Fija tolerancia para interpretación de los análisis de contenido de plaguicidas.
Resolución No 2410	1997	Establece la obligación de declarar las ventas de plaguicidas de uso agrícola.
Resolución No 1899	1999	Establece la obligación de declarar al SAG la existencia de plaguicidas caducados, Derogada por la Resolución NO 432 de 2015.
Resolución No 3670	1999	Establece normas para la evaluación y autorización de plaguicidas.
Resolución No 940	1999	Crea el Comité Asesor del Servicio Agrícola y Ganadero para la evaluación de plaguicidas de uso agrícola”, modificada por la Resolución NO3139 de 2000.
Resolución No 3671	1999	Establece muestreo y análisis de todos los plaguicidas de uso agrícola que se importen al país y de aquellos formulados en Chile, antes de su comercialización (DEROGADA)
R. E. No 1836	2000	Crea el Subdepartamento de Plaguicidas y Fertilizantes del SAG
R.E. No 1315	2000	Establece normas para el ingreso de muestras de plaguicidas para ensayo o experimentación
R.E. No 2195	2000	Establece requisitos que deben cumplir las etiquetas de los envases de plaguicidas de uso agrícola
R.E. No 2196	2000	Establece Clasificación Toxicológica de Plaguicidas de Uso Agrícola
R.E. No 2197	2000	Establece denominación y códigos de formulaciones de Plaguicidas de Uso Agrícola
R.E. No 2198	2000	Establece protocolos para ensayos con plaguicidas
R.E. No 92	2002	Establece normas para ingreso de muestras de plaguicidas para experimentación
R.E. No 2122	2002	Crea Comité Asesor del Director Nacional del Servicio Agrícola y Ganadero en materia de fertilizantes
R. E. No 2147	2002	Instruye el Reconocimiento de Aplicadores de Plaguicidas ante el Servicio Agrícola y Ganadero.
R. E. No 1404	2003	<u>Ingreso de patrones analíticos de plaguicidas.</u>
R.E. No 1038	2003	<u>Procedimientos de fiscalización de plaguicidas importados y nacionales”</u>
R. E. No 3577	2006	Obligación de Declarar Bromuro de Metilo.

R. E. No 3220	2006	Deroga Resolución No 2439 de 2000 y fija estándares para la evaluación de plaguicidas según Resolución Exenta No 3670
R.E. No 1297	2007	<u>Normas para el ingreso de feromonas de monitoreo de plagas</u>
R.E. No 6267	2008	<u>Complementa Resolución No 2.147/2002 que instituye el reconocimiento de aplicadores de plaguicidas ante el SAG</u>
R.E. No 6666	2009	<u>Establece disposiciones para autorizar el uso de plaguicidas en cultivos menores</u>
R.E. No 5392	2009	<u>Establece denominación y códigos de formulación de plaguicidas y deroga Resolución NO2.197 de 2000"</u>
R.E. No 752	2009	<u>Modifica Resolución No 3.670 de 1999 que establece normas para la evaluación y autorización de plaguicidas"</u>
R.E. No 3777	2010	<u>Fija tiempos estándares para la evaluación, autorización y renovación de plaguicidas agrícolas formulados solo para exportación"</u>
R.E. No 1885	2010	<u>Establece requisitos para evaluación y autorización de plaguicidas formulados sólo para exportación</u>
R.E. No 7935	2010	<u>Fija estándares para la evaluación de plaguicidas agrícolas y deroga resoluciones No 3.220/2006 y 7.080/2008</u>
R. E. No 5943	2010	Modifica Resolución No 2.147/2002 en el sentido que amplía plazo para renovación de conocimientos mediante cursos de actualización a los aplicadores de plaguicidas reconocidos por el SAG
R.E. No 5846	2011	Establece normas para autorizar estaciones experimentales destinadas a probar plaguicidas y deroga Resolución No 19 de 1985"
R.E. No 5551	2011	Modifica Resolución No 3.670 de 1999 que establece normas para la evaluación y autorización de plaguicidas
R.E. No 1557	2014	Establece exigencias para autorización de plaguicidas y deroga Resolución No 370 de 1999

El SAG ha prohibido y/o restringido una serie de plaguicidas, considerados como de riesgo inaceptable ya sea por los efectos hacia las personas, el medio ambiente o la eficacia agronómica, algunos ejemplos se detallan a continuación.

Tabla 7 Plaguicidas prohibidos y/o restringidos por SAG

NORMATIVA	AÑO	APLICACIÓN
Resolución No 1.720	1982	Prohíbe importación, fabricación y uso del monofluoracetato de sodio o compuesto 1080
Resolución No 639	1984	Prohíbe la importación, fabricación, venta, distribución y uso del plaguicida DDT.
Resolución No 1.437	1986	Fija nivel máximo de residuos de plaguicidas clorados en empastadas para efectos sancionatorio.
Resolución No 2.142	1987	Prohíbe la importación, fabricación, venta, distribución y uso de los plaguicidas Dieldrin, Endrin, Heptacloro, y Clordán
Resolución No 1.573	1989	Prohíbe la importación, distribución, venta y aplicación del fitoregulator Daminozid
Resolución No 996	1993	Prohíbe la importación, fabricación, distribución, venta y uso de plaguicidas agrícolas que contengan sales orgánicas o inorgánicas de mercurio
Resolución No 2.180	1998	Prohíbe la importación, venta, fabricación, distribución y uso de plaguicidas de uso agrícola que contengan Lindano
Resolución No 312	1999	Prohíbe la importación, fabricación, venta, distribución y aplicación de plaguicidas de uso agrícola formulados en base a Paration Etilo y Metilo
Resolución No 909	2001	Restringe el uso y manejo de todas las formulaciones de plaguicidas agrícolas que contengan Paraquat como ingrediente activo
Resolución No 90	2002	Prohíbe la importación, fabricación, venta, distribución y aplicación de plaguicidas de uso agrícola que contengan Hexaclorobenceno

Resolución No 78	2004	Prohíbe importación, fabricación, venta, distribución y uso de plaguicidas que contengan el ingrediente activo Pentaclorofenol y sus sales”.
Resolución No 8231	2011	Prohíbe la fabricación, importación, exportación, distribución, venta, tenencia y uso de plaguicidas que contengan el ingrediente activo Clordecona”.
Resolución No 8231	2011	Prohíbe la fabricación, importación, exportación, distribución, venta, tenencia y uso de plaguicidas que contengan el ingrediente activo Beta-HCH”.
Resolución No 8231	2011	Prohíbe la fabricación, importación, exportación, distribución, venta, tenencia y uso de plaguicidas que contengan el ingrediente activo Endosulfán.
Resolución No 8231	2011	Prohíbe la fabricación, importación, exportación, distribución, venta, tenencia y uso de plaguicidas que contengan el ingrediente activo Aldicarb.

En el contexto del DL 3557 de 1980 su Artículo 34° señala que “Los adquirentes o usuarios de plaguicidas deberán emplearlos de acuerdo con las normas técnicas señaladas en la etiqueta, adoptando las medidas de seguridad en ella indicadas y respetando los plazos que deben transcurrir entre la última aplicación y la cosecha. Sólo con autorización expresa del Servicio podrá dárseles un uso distinto. El Servicio podrá prohibir la utilización o venta de los vegetales que resulten contaminados con plaguicidas o con residuos de ellos superiores a los permitidos, o retenerlos temporalmente. Asimismo, podrá ordenar su destrucción o decomiso si las circunstancias así lo requieren”. A partir del él, en el año 2011 el SAG estructuró una Programa de Monitoreo de Residuos de Plaguicidas que permitiera verificar el cumplimiento de las prácticas agrícolas obligatorias establecidas en la etiqueta de los plaguicidas, el cual se mantiene vigente a la fecha.

6.1.3 MINISTERIO DEL INTERIOR

El Ministerio del Interior, bajo el Departamento de Sustancias Químicas Controladas, controla la producción, fabricación, preparación, importación y exportación de precursores y sustancias químicas esenciales de ser utilizadas en la elaboración de drogas ilícitas de acuerdo lo establecido en la Ley 20.000¹⁸ y su Decreto No 1358. En conformidad a lo señalado en la Ley, las personas naturales o jurídicas que produzcan, fabriquen, preparen, importen o exporten precursores o sustancias químicas esenciales catalogadas como susceptibles de ser utilizadas para la fabricación ilícita de drogas estupefacientes o sicotrópicos deberán inscribirse en un registro especial del Ministerio de Interior. Las personas inscritas deberán mantener un inventario que dé cuenta de las existencias y movimientos que registren dichas sustancias.

6.1.4 MINISTERIO DE DEFENSA

Este Ministerio, a través de la Dirección General de Movilización Nacional (DGMN) está a cargo de la vigilancia y control de las armas, explosivos, fuegos artificiales y artículos pirotécnicos y otros elementos similares de que trata la Ley No 17.798, modificada por la Ley No 18.592 de 1987.

A través del Reglamento sobre Control de Armas, Explosivos y Elementos Similares, en su Título Séptimo (De los Explosivos y Productos Químicos), señala que la Dirección General se preocupará de establecer y mantener actualizado un listado nacional de Explosivos y Productos Químicos utilizados en la fabricación de los explosivos.

Otras materias que le corresponden a la DGMN y que se relacionan con el estudio son:

¹⁸ <http://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=235507>

Tabla 8 Materias bajo el alcance del Ministerio del Interior

NORMATIVA	AÑO	APLICACIÓN
D. S. No 364	1997	Designa a la DGMN como el organismo de contacto permanente con la Organización para la Prohibición de Armas Químicas (OPAQ), con sede en La Haya, Holanda, y de los demás Estados Partes de la Convención de Armas Químicas (CAQ). En Chile, es el organismo encargado de hacer cumplir las disposiciones establecidas en la Convención dentro del territorio nacional o bajo su jurisdicción
D.S. No 176	2007	La DGMN fue designada, además, la Autoridad Nacional de Chile para la Convención de Armas Biológicas (CAB). Las funciones de coordinación y de enlace de la Autoridad Nacional con los demás Estados Partes y organismos internacionales como la Organización de las Naciones Unidas se efectuarán a través del Ministerio de Relaciones Exteriores. Corresponderá a la DGMN, recabar información sobre las toxinas y las instalaciones de los organismos nacionales públicos y privados que tengan relación directa e indirecta con estas materias, en el contexto del estudio, las empresas destinadas a la formulación de plaguicidas de tipo microbiológico registradas en Chile. Además, la DGMN deberá fiscalizar en todo el país el cumplimiento de las obligaciones que la CAB impone al Estado de Chile.

También dependiente del Ministerio de Defensa se encuentra la Dirección General del Territorio Marítimo y Marina Mercante (DIRECTEMAR). Este organismo de la Armada, ejerce la administración marítima del litoral y aguas sometidas a jurisdicción nacional, y controla técnica y profesionalmente a la marina mercante nacional y las demás actividades marítimas nacionales. Dentro de las reparticiones que están bajo la DIRECTEMAR se encuentran las Gobernaciones Marítimas (GG.MM.) que cumplen funciones delegadas en sus respectivas áreas jurisdiccionales. Ellas son: Arica, Iquique, Antofagasta, Caldera, Hanga Roa, Coquimbo, Valparaíso, San Antonio, Talcahuano, Valdivia, Puerto Montt, Castro, Aysén, Punta Arenas, Puerto Williams y Antártica Chilena.

DIRECTEMAR establece procedimientos de control de mercancías peligrosas en los recintos portuarios. Se define como mercancía peligrosa toda solución, sustancia química, mezcla o artículo que puede ocasionar daño a las personas, materiales y/o al medio ambiente. La Autoridad Marítima es la entidad superior en las faenas que se realizan en los puertos y coordina con las demás autoridades la ejecución; no obstante, en lo referido a materias de seguridad, es la entidad exclusiva a quien le corresponde determinar las medidas que conviene adoptar.

Para lograr cumplir su rol define algunas acciones específicas, a saber:

- Solicita la documentación requerida para el embarque y desembarque de mercancías peligrosas,
- Define las mercancías peligrosas, que requieren de escolta de seguridad, en los puertos,
- Revisa cuando ingresen a los recintos portuarios, mercancías peligrosas, por mar o tierra.

6.1.5 MINISTERIO DE ECONOMÍA

En el caso de los plaguicidas, la relación más directa de este Ministerio con su gestión es mediante el fomento de la Producción Limpia (PL) y los Acuerdos de Producción Limpia (APL), los cuales tienen por finalidad, mejorar el desempeño ambiental mediante medidas específicas detalladas en este acuerdo.

La estrategia de Producción Limpia, surge como alternativa para enfrentar el problema antes que se produzca la contaminación, al priorizar una gestión productiva eficiente que aprovecha en forma integral materias primas y energía, al tiempo que identifica oportunidades de mejoramiento en todas las áreas y actividades de la empresa, sea productiva o de servicios. Es importante señalar que como resultado de un acuerdo interinstitucional se homologa Producción Limpia con Buenas Prácticas Agrícolas, lo cual permite que los instrumentos de fomento puedan ser empleados no sólo en materias industriales sino también en el sector silvoagropecuario. Dichos acuerdos son gestionados por el Consejo Nacional de Producción Limpia, constituido como un Comité CORFO, en el cual su Consejo Directivo está compuesto por diversas autoridades con competencia ambiental y, representantes del sector privado.

En los últimos años se han realizado un gran número de APL en el sector silvoagropecuario, donde uno de los temas priorizados fue la mejora en la gestión del uso y manejo de plaguicidas, a continuación, se señalan los Acuerdos donde este tema es priorizado a través de la generación de indicadores específicos:

Tabla 9 Acuerdos de producción limpia en el sector silvoagropecuario

APL	FECHA	ETAPA
Cadena Comercial de Berries de la Región del Maule	Mayo 2012	En implementación y auditoría final
PYMES Silvícolas de Plantaciones Provincia de Ñuble Región del Biobío	Septiembre 2011	En implementación y auditoría final
Packing de la región del Maule	Septiembre 2011	En implementación y auditoría final
Productores y Exportadores de Uva de Mesa	Junio 2011	En implementación y auditoría final
Viveros Sector Frutícola	Enero 2011	En implementación y auditoría final
Vinos II	Diciembre 2009	En implementación y auditoría final
Lecheros Zona Central	Noviembre 2009	En implementación y auditoría final
MIPyME de la Madera	Diciembre 2009	En implementación y auditoría final
Agrícola Coquimbo	Septiembre 2009	En implementación y auditoría final
Productores de Leche Bovina de la Región de Los Ríos	Diciembre 2008	En implementación y auditoría final
Sector Productor y Exportador de Miel	Octubre 2008	En implementación y auditoría final
Sector Fabricantes, Importadores y Distribuidores de Plaguicidas de uso Agrícola	Diciembre 2007	En implementación y auditoría final
Aves de Carne	Mayo 2007	En implementación y auditoría final
APL Huevos	Octubre 2007	En implementación y auditoría final
Buenas Prácticas Agropecuarias Sector Producción Porcino Intensiva	Septiembre 2005	En implementación y auditoría final
implementación de Buenas Prácticas Agrícolas en el Sector Hortofrutícola	Abril 2002	Finalizado
Sector Productores de Cerdos I	Diciembre 1999	Finalizado
Frutícola Coquimbo	Julio 2013	Finalizado
Tomates y Pimientos Región Arica y Parinacota	Septiembre 2013	Finalizado

Por otra parte, de este Ministerio también depende el Instituto Nacional de Normalización (INN), cuyo objetivo es estudiar las normas técnicas requeridas por los distintos sectores del país; estudiar y proponer mecanismos que permitan la aplicación de las normas técnicas que aprueba; y crear en todos los niveles, conciencia y conocimiento de la importancia de las normas técnicas, la metrología, el control de calidad y la certificación.

En este contexto, el INN ha generado un sinnúmero de Normas Chilenas aplicadas al contexto del ciclo de vida de las sustancias químicas, tales como, la N.Ch. 382 sobre clasificación de sustancias químicas, la N.Ch. 2190 sobre distintivos para identificación de riesgos, entre otras. Sin embargo se debe aclarar que estas Normas Chilenas no son vinculantes. Una vez que una entidad pública con atribuciones regulatorias la cita como norma, entonces pasa a ser vinculante denominándose Norma Chilena Oficial.

6.1.5 MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

Este Ministerio asume el rol negociador y punto de referencia de nuestro país en todos los convenios internacionales relacionados con el medio ambiente, donde actualmente se abordan temas asociados a las etapas de importación, transporte, uso/manejo, exportación y disposición de sustancias químicas. En el plano internacional, el creciente volumen de fabricación y comercio de sustancias químicas (algunas de ellas de comprobada peligrosidad) constituye una preocupación a nivel global.

Los convenios surgen como producto de los trabajos de los organismos internacionales, tales como: Organización Marítima Internacional (OMI); Organización Internacional del Trabajo (OIT); Organización de las Naciones Unidas (ONU); Organización Mundial de la Salud (OMS), y la Unión Internacional de Telecomunicaciones (UIT), Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO), Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), entre otros.

Estos acuerdos permiten generar en el país y entre los países, sinergias, que se consolidan a través de planes, programas, proyectos, normas, procedimientos y/o prácticas, que regulan o aportan a temas específicos, en este caso los plaguicidas de uso agrícola, incluyendo las condiciones para su importación, fabricación, uso, manejo, transporte y disposición final, lo que se denomina “Ciclo de vida de la sustancia”. La gestión racional de los plaguicidas y sustancias químicas es fundamental para alcanzar el desarrollo sostenible, que abarca mejoras en la salud humana, el ambiente y en la calidad de vida y, por tanto, deben ser consideradas para una mejor decisión.

Otro aspecto no menor, es que estas propuestas internacionales operan como grandes líneas políticas/técnicas, que aportan elementos fundamentados de aceptación o rechazo de ciertas sustancias, lo cual permite a las autoridades tomar decisiones con respaldo científico y consenso internacional.

La plena implementación de los compromisos requiere la adecuación de la normativa e institucionalidad nacional vigente en cada uno de los países.

A continuación, se presentan sucintamente algunos Convenios.

Tabla 10 Resumen de convenios internacionales

	CONVENIO	IMPLEMENTACIÓN	ALCANCE
1	Código Internacional de Conducta para el Manejo de Plaguicidas (ex Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas)	Adoptado en 1985 por la Conferencia de la FAO y modificado en 1989, siendo su última revisión en el año 2013	El Código Internacional de Conducta aborda aspectos importantes para la gestión de Plaguicidas desde su elaboración hasta su eliminación, fue uno de los primeros códigos de conducta voluntario encaminado a conseguir una mayor seguridad alimentaria y, al mismo tiempo, proteger la salud humana y el medio ambiente. Hace referencia a todos los usos de los

			plaguicidas en la agricultura, la salud pública y en otros ámbitos.
2	Convenio de Rotterdam Procedimiento de Consentimiento Fundamentado aplicable a Ciertos Productos Químicos Peligrosos Objeto de Comercio Internacional.	Entró en vigor el 24 de febrero de 2004	Este Convenio promueve la responsabilidad compartida entre países exportadores e importadores para proteger la salud humana y/o el medio ambiente de los efectos dañinos de ciertas sustancias químicas, facilitando el intercambio de información acerca de sus características, estableciendo un proceso nacional de adopción de decisiones sobre su importación y exportación.
3	Convenio de Estocolmo se generó como un Instrumento Jurídicamente Vinculante para la Aplicación de Medidas Internacionales respecto de ciertos productos Contaminantes Orgánicos Persistentes COP's,	Fue firmado el 22 de mayo de 2001 en Estocolmo y entró en vigor el 17 de mayo del 2004	Los compromisos adquiridos por los Países firmantes: A) Eliminar o restringir la producción y el uso de los COP's producidos intencionalmente. B) Eliminar en forma ambientalmente adecuada, las existencias de los COP's fuera de uso, deteriorados, vencidos o prohibidos. C) Minimizar la generación de los COP's, que se forman y liberan de manera no intencional, tomando medidas de prevención relativas a las mejores técnicas disponibles y las mejores prácticas ambientales; D) Elaborar un Plan Nacional de Implementación del Convenio de Estocolmo
4	Convenio de Basilea sobre el control de los movimientos transfronterizos de los desechos peligrosos y su eliminación	Fue aprobado en 1989 y entró en vigor el 5 de mayo de 1992 y a la fecha adhieren 175 Estados Parte.	Creado para tratar las preocupaciones sobre la gestión, eliminación y los movimientos transfronterizos de desechos peligrosos considerados peligrosos para el ser humano y/o el medio ambiente, habida cuenta de sus características tóxicas, venenosas, explosivas, reactivas, corrosivas, inflamables o infecciosas. Su objetivo central es minimizar la producción de desechos peligrosos, en la medida de lo posible. Esto implica orientar el tema a través de un "enfoque integrado de ciclo de vida", que implica fuertes controles en la generación, almacenamiento, transporte, tratamiento, reutilización, reciclaje, recuperación y disposición final de residuos peligrosos
5	Convenios de la Organización Internacional del Trabajo (OIT): - Convenio 170 Seguridad en la utilización de los productos químicos en el trabajo. - Convenio 174 Prevención de accidentes industriales importantes	Aprobado en el año 1990	Los Estados miembros de la OIT que hayan ratificado el Convenio 170, asumen, entre otras cosas, la obligación de establecer un sistema de clasificación, basado en criterios específicos adecuados, para determinar si un producto químico es peligroso, establecer fichas de datos de seguridad, incluida información detallada sobre riesgos, precauciones de seguridad y procedimientos de emergencia recomendados para los productos químicos, y etiquetar a los productos químicos peligrosos para facilitar información esencial sobre los peligros que presentan y las precauciones de seguridad que deben observarse.

6.1.6 MINISTERIO DEL TRABAJO

El Ministerio de Trabajo, a través de la Dirección del Trabajo, fiscaliza el cumplimiento de normas de higiene y seguridad en el trabajo. En particular, le corresponde controlar el cumplimiento de las medidas básicas legalmente exigibles sobre el adecuado funcionamiento de instalaciones, máquinas e instrumentos de trabajo. Además, hace cumplir el Seguro Social contra Riesgos por Accidentes del

Trabajo y Enfermedades Profesionales, establecido por la Ley No 16.744, de 1968, el cual entrega prestaciones en caso de accidentes causados en el desempeño de una actividad de trabajo, en el trayecto o de enfermedades que se hayan contraído por el desempeño de una profesión o actividad.

En ambos casos le corresponde a esta entidad hacer cumplir las normativas respecto del uso y manejo de plaguicidas y sustancias químicas en especial, lo establecido en el Decreto Supremo No 594 del MINSAL publicado en Diario Oficial de 29 de abril de 2000, el cual aprueba el reglamento sobre condiciones sanitarias y ambientales básicas en los lugares de trabajo, además de dar cumplimiento a las regulaciones que establece el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) relacionadas con la protección de las personas en lugares de trabajo indicadas en la etiqueta del plaguicida usado.

En este contexto su objetivo es atender las necesidades de la comunidad en lo que se relaciona con materias laborales y de seguridad social, desarrollando políticas en el campo de la capacitación y formación profesional; de fiscalización de las leyes laborales y previsionales; de promoción de las condiciones de seguridad e higiene en el trabajo y de mejoramiento de la calidad de las relaciones laborales.

Participa en el control del ciclo de vida de sustancias químicas, con el objetivo de proteger la salud y seguridad de los trabajadores que intervienen en estas actividades. Básicamente su labor está orientada a establecer mecanismos de prevención, como son la señalización, bodegas, elementos de protección personal, protección contra incendios; entre otras materias. Tiene la facultad ante riesgo inminente, de suspender cualquier actividad por el tiempo en que persista la situación. Realiza actividades de difusión y capacitación de los actores laborales y fiscaliza la normativa que regula las condiciones de trabajo, entre otros.

6.1.7 MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE (MMA)

La misión del Ministerio del Medio Ambiente es “liderar el desarrollo sustentable, a través de la generación de políticas públicas y regulaciones eficientes, promoviendo buenas prácticas y mejorando la educación ambiental ciudadana. El objetivo es alcanzar el desarrollo sustentable para el país con el objeto de mejorar la calidad de vida de los chilenos, tanto de ésta como de las futuras generaciones”.

Existen objetivos comunes para la institucionalidad ambiental, es decir, tanto para el Ministerio y la Subsecretaría del Medio Ambiente, como para la Superintendencia del Medio Ambiente (SMA) y, el Servicio de Evaluación Ambiental (SEA), de acuerdo a la competencia de cada uno de ellos.

En relación al estudio en desarrollo, un objetivo institucional que se relaciona directamente con las sustancias químicas es “Desarrollar y fortalecer los marcos normativos, mejorando la promulgación de normas regulatorias de emisión, de calidad de agua, del manejo de residuos y *sustancias químicas*, así como evaluar posibles normativas en relación al componente suelo”. En esta línea de acción el MMA centra su trabajo en fortalecer el ciclo de vida de las sustancias químicas desde la óptica ambiental. Otro aspecto relacionado tiene que ver con la aplicación del Decreto No 40 del año 2012 denominado “Reglamento del sistema de evaluación de impacto ambiental que hace referencia al uso intencional de sustancias químicas en el ambiente” y “Tipos de proyectos o actividades. Los proyectos o actividades susceptibles de causar impacto ambiental, en cualquiera de

sus fases, que deberán someterse al Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental, son los siguientes:

- El impacto generado por la utilización y/o manejo de productos químicos, residuos, así como cualesquiera otras sustancias que puedan afectar los recursos naturales renovables
- Aplicación masiva de productos químicos en áreas urbanas o zonas rurales próximas a centros poblados o a cursos o masas de aguas que puedan ser afectadas.

En resumen, el MMA propone políticas y formula normas, planes y programas en materia de residuos y suelos contaminados, así como la evaluación del riesgo de productos químicos, organismos genéticamente modificados y otras sustancias que puedan afectar el medio ambiente, sin perjuicio de las atribuciones de otros organismos públicos en materia sanitaria.

Otras funciones relevantes del MMA en lo relativo a sustancias químicas, son:

A.- Coordinar el Comité Nacional Asesor de la Agenda Química Internacional.

B.- En emergencias químicas, debe identificar los riesgos como los impactos ambientales y hacer, si corresponde, recomendaciones ambientales para el lugar de la emergencia.

6.1.8 MINISTERIO DE TRANSPORTE Y TELECOMUNICACIONES

El Ministerio de Transporte y Telecomunicaciones es el encargado a nivel nacional de proponer las políticas nacionales en el ámbito del transporte y telecomunicaciones, se relaciona con el transporte y distribución de las sustancias químicas por la existencia de un Decreto Supremo que regula el “Transporte de Cargas Peligrosas por Calles y Caminos”. Además, tiene la facultad para restringir el tránsito de cargas peligrosas, en forma permanente o transitoria, por determinadas vías.

El reglamento que tiene relación con este estudio es el Decreto No 298, del año 2002, que establece las condiciones, normas y procedimientos aplicables al transporte de carga, por calles y caminos, de sustancias o productos que, por sus características, sean peligrosas o representen riesgos para la salud de las personas, para la seguridad pública o el medio ambiente.

6.1.9 MINISTERIO DE HACIENDA

El Ministerio de Hacienda delega al Servicio Nacional de Aduanas el cumplimiento de diferentes funciones claves para el desarrollo del país, ya que tiene un rol en materias de comercio exterior, respecto de las operaciones de importación y exportación, para lo cual genera procedimientos a través de la implementación de trámites y procesos. Asimismo, debe resguardar los intereses del Estado, fiscalizando dichas operaciones, de manera oportuna y exacta, y recaudar los derechos e impuestos vinculados a éstas. Además, le corresponde generar las estadísticas del intercambio comercial de Chile y realizar otras tareas que le encomienda la ley.

Desde la perspectiva del estudio, el Servicio Nacional de Aduanas participa fiscalizando las importaciones de sustancias químicas peligrosas previo a su internación al país. Su rol es verificar que la documentación de los productos cuente con las autorizaciones de los servicios correspondientes, conforme lo establece la Ley No 18.164, y de acuerdo con los listados que el Ministerio de Salud (MINSAL) y el SAG establecen. Además, interviene en los procesos de

exportación haciendo revisiones a ciertos productos que, en virtud de su contenido, se estime necesaria.

La Ley No 18.164 **“Establece normas de carácter Aduanero y Modifica la legislación pertinente”** señala en sus artículos 1° y 2°, las instituciones con las cuales el Servicio Nacional de Aduana se relaciona para dar la aprobación de internación de productos químicos.

“Artículo 1°.- Para cursar cualquiera destinación aduanera respecto de alcoholes, bebidas alcohólicas y vinagres; de productos vegetales y mercancías que tengan el carácter de peligrosas para los vegetales; de animales, aves, productos, subproductos y despojos de origen animal o vegetal, y de fertilizantes y pesticidas, el Servicio de Aduanas exigirá un certificado emitido por el Servicio Agrícola y Ganadero en que se señale el lugar autorizado emitido por el Servicio Agrícola y Ganadero en que se señale el lugar autorizado donde deberán depositarse las citadas mercancías, la ruta y las condiciones del transporte que deberá utilizarse para efectuar su traslado desde los recintos aduaneros hasta el lugar de depósito indicado. El Servicio Agrícola y Ganadero deberá pronunciarse respecto del certificado a que se alude en el inciso anterior a más tardar en el plazo de tres días hábiles, contado desde la fecha de la petición del mismo. En caso de rechazo, deberá hacerlo por resolución fundada.

Artículo 2°.- Para cursar cualquiera destinación aduanera respecto de productos alimenticios de cualquier tipo; de sustancias tóxicas o peligrosas para la salud; de productos farmacéuticos, alimentos de uso médico y cosméticos y de estupefacientes y sustancias psicotrópicas que causen dependencia, el Servicio de Aduanas exigirá un certificado emitido por el Servicio de Salud respectivo, en que se señale el lugar autorizado donde deberán depositarse las referidas mercancías, la ruta y las condiciones de transporte que deberá utilizarse para efectuar su traslado desde los recintos aduaneros hasta el lugar de depósito indicado. Los Servicios de Salud deberán pronunciarse respecto del certificado a que se alude en el inciso anterior, a más tardar en el plazo de tres días hábiles contado desde la fecha de la petición. En caso de rechazo, deberán hacerlo por resolución fundada”.

7. RECOPIACIÓN DE INFORMACIÓN DE LAS ACTUALES PLATAFORMAS INFORMÁTICAS DE LAS DISTINTAS ORGANIZACIONES GUBERNAMENTALES DEL PAÍS EN MATERIA DE SUSTANCIAS QUÍMICAS.

En esta sección se describe el funcionamiento de los diferentes sistemas oficiales de registro e información de sustancias químicas presentes actualmente en nuestro país, de acuerdo a las competencias de las distintas instituciones públicas descritas en la sección anterior.

7.1 IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL FUNCIONAMIENTO DE LOS SISTEMAS OFICIALES DE REGISTRO EN MATERIA DE GESTIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS

7.1.1 GESTIÓN DE REGISTRO Y AUTORIZACIÓN DE PLAGUICIDA DE USO AGRÍCOLA EN CHILE

El Registro de plaguicidas es el proceso a través del cual el gobierno nacional o la autoridad regional responsable aprueba la venta y el uso de plaguicidas realizando una evaluación de los datos científicos que demuestren que el producto es efectivo para los propósitos a que se destina y no presenta un riesgo inaceptable a la salud humana, animal o al medio ambiente.

El propósito del registro es asegurar que los plaguicidas al ser usados de acuerdo a las instrucciones de uso, advertencias y precauciones contenidas en la etiqueta aprobada, serán efectivos para el propósito destinado, a la vez que no suponen riesgos inaceptables a los usuarios, consumidores de alimentos tratados y vida silvestre u organismos no blanco.

En Chile, dado que el SAG entidad oficial en materias de plaguicidas de uso agrícola, no posee atribuciones legales para registrar un plaguicida se utiliza la denominación “autorización de plaguicidas” que desde la perspectiva operativa es homologable.

El Registro es un elemento clave en una legislación de plaguicidas bien desarrollada y es crucial en el manejo, regulación y control de plaguicidas en un país, pues permite a las autoridades determinar qué productos autoriza para ser usados y para qué propósitos, así como también ejercer control sobre la calidad, niveles de uso, etiquetado, envasado y advertencia de plaguicidas, a objeto de asegurar que tanto el interés del usuario final, como el medio ambiente estén protegidos.

La autorización de plaguicidas está regulada por la Resolución No 3670 de 1999, en la cual se establecen definiciones, procedimientos y acciones específicas destinadas a evaluar plaguicidas de uso agrícola.

La definición de plaguicida de uso agrícola en Chile corresponde a la señalada en el DL 3557 de 1980, Título 1 DISPOSICIONES, en su letra “k) Plaguicida: Compuesto químico, orgánico o inorgánico, o sustancia natural que se utilice para combatir malezas o enfermedades o plagas potencialmente capaces de causar perjuicios en organismos u objetos”, por tanto, al analizar el concepto se puede

señalar la amplitud de éste, y por tanto, la gran diversidad de tipos de productos que deben ser autorizados”.

La Resolución No 3670 de 1999 que “Establece normas para la evaluación y autorización de plaguicidas” intenta dar más claridad a la definición que se entrega a partir del DL 3557, para lo cual define en el numeral 1 “Plaguicida: Compuesto químico, orgánico o inorgánico, o sustancia natural que se utilice para combatir malezas, enfermedades o plagas potencialmente capaces de causar perjuicios en organismos u objetos. Se entenderá cada producto formulado y las sustancias activas con las que se formulan, con aptitudes *insecticidas, acaricidas, nematocidas, molusquicidas, rodenticidas, lagomorficidas, avicidas, fungicidas, bactericidas, alguicidas, herbicidas, defoliantes, desecantes, fitoreguladores, coadyuvantes, antitranspirantes, atrayentes, feromonas, repelentes, y otros que se empleen en las actividades agrícolas y forestales*”.

Esta normativa de registro fue modificada por la Resolución No 1557 de 2014, sin embargo, la modificación fue suspendida y no se aplicó durante el año 2015.

A continuación, se describirán etapas, los pasos y procedimientos aplicados a autorizar un plaguicida agrícola en Chile.

Tabla 11 Etapas y descripción del proceso para la autorización de plaguicidas de uso agrícola

ETAPAS	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO
Recepción Solicitud de Autorización	Todo documento o dossier que pretenda obtener autorización, debe ser ingresado por el solicitante en la Oficina de Partes del SAG para ser evaluado
Revisión documental (Etapa I)	El evaluador verifica que la solicitud de autorización cumpla con los requisitos y adjunte toda la documentación requerida. Para ello, tiene un plazo de 30 días a partir de la fecha de recepción en oficina de Partes del SAG (Numeral 13 de la Resolución NO 3.670 de 1999).
Evaluación técnica (Etapa II)	La evaluación técnica permite tomar la decisión de autorizar o no un plaguicida y de establecer las condiciones mínimas que deben cumplir para su correcto empleo. Complementariamente, debe darse cumplimiento a otras normas que establecen requisitos específicos en el proceso de autorización como: A.- <i>Etiqueta en los envases</i> , que debe cumplir con los requisitos señalados en la Resolución No2.195 de 2000, que norma tanto la presentación como el contenido descrito en ellas. B.- <i>Clasificación toxicológica de los plaguicidas</i> : la cual debe estar en concordancia con los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se describen en la Resolución NO 2.196 de 2000. C.- <i>Denominación y códigos de formulaciones de plaguicidas</i> : deben cumplir con lo detallado en la Resolución No 2.197 de 2000. Esta etapa tiene un plazo de seis meses a contar de la recepción de la Solicitud (ingreso Oficina de Partes) para dar respuesta técnica al solicitante, de acuerdo al numeral 14 de la Resolución NO 3.670 de 1999.
Resultado de Evaluación Técnica	<i>No cumple</i> : Si el producto no cumple con lo exigido en la Resolución 3670, se remite al solicitante una Carta con observaciones y una citación a reunión técnica entre equipo técnico del solicitante y profesionales de la Sección, para analizar las observaciones. Esta reunión debe realizarse dentro de los 10 días hábiles desde el envío de dicha carta. <i>Sí cumple</i> : a cada producto se le asigna un número correlativo dependiendo de la serie a la que corresponde y se le solicita al usuario 100 etiquetas. Una vez recepcionadas, el evaluador correspondiente verifica que las 100 etiquetas correspondan a la última etiqueta recibida y aprobada. Una vez recepcionada por el solicitante, éste debe realizar los ajustes o emitir comentarios técnicos sobre el tema al Sub departamento en un plazo de 60 días. Los encargados separan 17 etiquetas para la Resolución, para enviarla según distribución, y las restantes las entregan al Administrativo a cargo para su ingreso al Registro de Recepción de Etiquetas y su archivo correspondiente.

Emisión de Resolución de Autorización	Se emite la propuesta de Resolución de Autorización para la firma del Jefe DPAF; una vez firmada se remite a Oficinas de Partes. La Resolución lleva el Comprobante de recaudación, Carta de Solicitud Inicial, Copia de publicación de Diario Oficial, lo cual queda archivado en Oficina de Parte. Con esta actividad, se termina el proceso de Autorización, y el solicitante puede comercializar el producto.
--	---

REGISTROS ASOCIADOS

Los registros asociados al proceso de autorización de plaguicidas, esto es, la información que se genera del proceso, se ha caracterizado mediante los siguientes parámetros:

Tabla 12 Tipo de registro de información en el proceso de autorización de plaguicidas agrícolas

PARÁMETRO	DESCRIPCIÓN
Tipo	Define qué nivel de acceso se puede tener al registro (público, restringido, etc.)
Disponibilidad	Señala dónde se encuentra el registro y/o en qué medio (papel, electrónico, etc.)
Origen	Específica qué normativa exige que este registro exista.
Almacenamiento	Señala dónde es almacenado el registro.
Información que contiene	Detalla qué información se encuentra contenida en el registro.

A continuación, se presentan los registros asociados al proceso de autorización de plaguicidas.

Tabla 13 Extracto de la solicitud de autorización en Diario Oficial

PARÁMETRO	SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN EN EL DIARIO OFICIAL
Tipo	Pública / Restringida
Disponibilidad	Diario Oficial / Dossier del plaguicida
Origen	Resolución 3670
Almacenamiento	Privado, en dossier de Plaguicida autorizado.
Información que contiene	<ul style="list-style-type: none"> - Individualización del solicitante; - Nombre comercial del plaguicida, - Aptitud del plaguicida; - Composición del plaguicida; - Tipo de formulación; - Identificación del formulador del plaguicida; - Usos a que se destinará el plaguicida; - Clasificación toxicológica.

Tabla 14 Etiquetado de plaguicidas de uso agrícola

PARÁMETRO	ETIQUETA DE PLAGUICIDA
Tipo	Pública* / Pública / Restringida
Disponibilidad	Página Web del SAG* / Envase de cada plaguicida / Dossier de plaguicidas
Formato	Pdf* / Papel / Papel
Origen	Resolución NO 2195/00 y Resolución NO 3670/99
Almacenamiento	Privado, en dossier de Plaguicida autorizado.
Información que contiene	<u>A. Área de Identificación del producto.</u> A.1.- Nombre comercial.

	<p>A.2.- Clase de uso (aptitud).</p> <p>A.3.- Nombre y código del tipo de formulación, de acuerdo con la Resolución correspondiente del Servicio.</p> <p>A.4.- Frase que resuma el uso a que se destina y las características del producto.</p> <p>A.5.- Composición del producto, indicando:</p> <ul style="list-style-type: none"> - los nombres comunes y químicos de cada sustancia activa; - el contenido de cada sustancia activa pura expresada en porcentaje de p/p para formulaciones sólidas y en porcentaje de p/v para formulaciones líquidas, y - el contenido total de auxiliares de formulación y sustancias acompañantes expresado en porcentaje de p/p para sólidos y en porcentaje de p/v para formulaciones líquidas, o en cantidad suficiente para completar el total. <p>A.6.- Número de autorización.</p> <p>A.7.- Número del lote o partida.</p> <p>A.8.- Fecha de vencimiento (mes y año).</p> <p>A.9.- Nombre y dirección del fabricante (o formulador) y del importador.</p> <p>A.10.- Contenido en volumen para productos líquidos y en peso neto para productos en forma sólida, expresado en unidades del sistema métrico decimal.</p> <p>A.11.- Indicación de si el producto es inflamable, corrosivo o explosivo.</p> <p>A.12.- Leyenda de Advertencia (en mayúscula):</p> <ul style="list-style-type: none"> - La frase: "LEA ATENTAMENTE LA ETIQUETA (Y EL FOLLETO ADJUNTO) ANTES DE USAR EL PRODUCTO". <p><u>B. Área de Recomendaciones de uso</u></p> <p>B.1.- Breve descripción de las características y forma de acción del producto.</p> <p>B.2.- Instrucciones de uso.</p> <p>B.2.1.- Nombre común de las plagas, enfermedades o malezas que pueden controlarse o efectos que se pueden obtener con la aplicación.</p> <p>B.2.2.- Época en que debe hacerse la aplicación.</p> <p>B.2.3.- Número de aplicaciones y espaciamiento entre ellas, si corresponde.</p> <p>B.2.4.- Dosis en sistema métrico decimal y referida a la formulación comercial.</p> <p>B.2.5.- Método adecuado de preparar las dispersiones o diluciones.</p> <p>B.2.6.- Incompatibilidades y fitotoxicidad.</p> <p>B.2.7.- Tiempo que debe mediar entre la aplicación y la cosecha, uso o consumo (período de carencia) para cada interrelación cultivo/producto, y entre la aplicación y la reentrada al cultivo tratado (tiempo de reingreso).</p> <p>B.2.8.- Otras informaciones que se consideren necesarias.</p> <p><u>C.- Área de Precauciones y Advertencias.</u></p> <p>C.1.- Grupo químico a que pertenece el plaguicida.</p> <p>C.2.- Precauciones para evitar daños a las personas que lo aplican o manipulan y a terceros, como equipos de protección personal (EPP) a utilizar durante la preparación de la dispersión y su aplicación, y cuando corresponda, observaciones específicas en el caso de aplicación aérea.</p> <p>C.3.- Síntomas de intoxicación, primeros auxilios, antídotos (cuando existan) y tratamiento médico de emergencia.</p> <p>C.4.- Advertencias sobre protección del medio ambiente y peligrosidad a organismos acuáticos y peces, aves y abejas, cuando corresponda</p> <p>C.5.- Leyendas de advertencia en forma destacada:</p> <p>C.5.1.- "MANTENER FUERA DEL ALCANCE DE LOS NIÑOS Y DE PERSONAS INEXPERTAS",</p> <p>C.5.2.- "EN CASO DE INTOXICACIÓN MOSTRAR LA ETIQUETA, EL FOLLETO O EL ENVASE AL PERSONAL DE SALUD",</p> <p>C.5.3.- "REALIZAR TRIPLE LAVADO DE LOS ENVASES, INUTILIZARLOS Y ELIMINARLOS DE ACUERDO CON INSTRUCCIONES DE LAS AUTORIDADES COMPETENTES"</p> <p>C.5.4.- "NO TRANSPORTAR NI ALMACENAR CON ALIMENTOS"</p> <p>C.5.5.- "NO LAVAR LOS ENVASES O EQUIPOS DE APLICACION EN LAGOS, RIOS Y OTRAS FUENTES DE AGUA"</p> <p>C.6.- Teléfonos de los Centros de Información Toxicológica y los teléfonos de emergencia del fabricante o importador.</p> <p>C.7.- Otras advertencias que sean consideradas pertinentes por las Autoridades Competentes.</p>
--	--

* No todas las etiquetas de los plaguicidas autorizados está disponible en página Web.

Tabla 15 Resolución de autorización de plaguicidas

PARÁMETRO	RESOLUCIÓN PLAGUICIDAS AUTORIZADOS
Tipo	Pública / Restringida
Disponibilidad	Página Web del SAG / Dossier del plaguicida / Interesado
Formato	Pdf / Papel / Papel
Origen	Resolución NO 3670/99
Almacenamiento	Privado, en dossier de Plaguicida autorizado.
Información que contiene	<ul style="list-style-type: none"> - NO y fecha de Resolución de autorización; - Identificación del solicitante (Nombre, Domicilio, Representante Legal, RUT); - Fecha de solicitud de autorización; - Nombre comercial; - Aptitud; - Formulación; - Sustancia activa (nombre y concentración); - Nombre y dirección del fabricante; - NO autorización SAG - Vigencia de la autorización

Tabla 16 Información disponible para los plaguicidas de uso agrícolas autorizados

PARÁMETRO	PLAGUICIDAS AUTORIZADOS
Tipo	Pública
Disponibilidad	Página Web del SAG / Dossier del plaguicida
Formato	Excel
Origen	Resolución No 3670/99
Almacenamiento	La información que da origen, se almacena en dossier de Plaguicida autorizado.
Información que contiene	<ul style="list-style-type: none"> - NO SAG: No correlativo de autorización entregado por el SAG, único por producto; - Serie: No que indica el tipo de plaguicida a que corresponde, a saber: <u>Serie 1000</u>: Insecticidas, rodenticidas, avicidas, lagomorficidas, otros. <u>Serie 2000</u>: Fungicidas y bactericidas; <u>Serie 3000</u>: Herbicidas <u>Serie 4000</u>: Misceláneos (feromonas, reguladores de crecimiento, otros) - Nombre comercial del producto autorizado; - Ingrediente activo; - Concentración (del ingrediente activo); - Tipo de Formulación: De acuerdo a lo indicado en Resolución 2197/00 - Sustancia activa (forma ácida, forma iónica); cuando corresponda; - Concentración (forma ácida, forma iónica); cuando corresponda; - Nombre fabricante del Producto Comercial; - País fabricante del Producto Comercial; - País de destino (sólo exportación); - Titular autorización; - Grupo químico; - Toxicidad; - Modo de acción; - Período de reingreso; - Cultivo; - Plaga / objetivo; - No Resolución de autorización SAG;

	<ul style="list-style-type: none"> - Fecha autorización SAG; - Autorización aplicación aérea; - Cultivo para aplicación aérea; - Sustancia natural / plaguicida biológico / feromona / coadyuvante.
--	---

Listas de plaguicidas: Plaguicidas cancelados: corresponden a aquellos plaguicidas cuya autorización ha caducado pero tienen un plazo de dos años o hasta agotar existencias (según lo que ocurra primero), sólo para su distribución, venta o aplicación (Resolución No 3.670 de 1999).

Tabla 17 Información disponible para los plaguicidas cancelados

PARÁMETROS	PAGUICIDAS CANCELADOS
Tipo	Pública
Disponibilidad	Página Web del SAG
Formato	PDF
Origen	Resolución NO 3670/99; Resoluciones específicas para cada plaguicida incluido.
Almacenamiento	: La información de origen se almacena en dossier de Plaguicida autorizado.
Información que contiene	NO SAG: NO correlativo de autorización entregado por el SAG, único por producto; <ul style="list-style-type: none"> - Clase de uso: Herbicida, fungicida, insecticida, etc.; - Nombre comercial del producto; - Ingrediente activo; - Concentración (del ingrediente activo); - Tipo de Formulación: De acuerdo a lo indicado en Resolución xxx - Nombre fabricante del Producto Comercial; - País fabricante del Producto Comercial; - Titular autorización; - Fecha Límite: Fecha hasta la cual el plaguicida puede ser distribuido, vendido o aplicado.

Listas de plaguicidas: Plaguicidas restringidos y prohibidos

Tabla 18 Información disponible para plaguicidas restringidos y/o prohibidos

PARÁMETROS	PAGUICIDAS RESTRINGIDOS/ PROHIBIDOS
Tipo	Pública
Disponibilidad	Página Web del SAG
Formato	PDF
Origen	Resolución NO 3670/99; Resoluciones específicas para cada plaguicida incluido
Almacenamiento	La información que da origen, se almacena en dossier de Plaguicida autorizado.
Información que contiene	<ul style="list-style-type: none"> - Ingrediente activo del plaguicida; - Prohibición: Establece cuáles son las restricciones que le aplican; - NO Resolución SAG: NO y fecha de la Resolución SAG que establece esto

Componentes de información de carácter confidencial

Asimismo, la Resolución 3670/99 establece que información científica proporcionada por el solicitante para la autorización de un plaguicida, que no sea de dominio público, o no haya sido publicada en revistas científicas o de divulgación, será confidencial. Sin embargo, el Servicio u otros

organismos oficiales del Estado podrán utilizarla con fines de control de calidad, de preservación de la salud humana o animal y prevención de la contaminación ambiental. En todo caso, esta información científica sólo podrá ser utilizada por agencias oficiales para resolver situaciones calificadas, según lo demanden los intereses nacionales.

Tabla 19 Información de carácter confidencial asociada a plaguicidas de uso agrícola

PARÁMETROS	COMPONENTES DE INFORMACIÓN DE CARÁCTER CONFIDENCIAL
Tipo	Restringida
Disponibilidad	Dossier del SAG
Formato	Papel y digital
Origen	Resolución No 3670/99.
Almacenamiento	La información que da origen, se almacena en dossier de Plaguicida autorizado.
Información que contiene	- Información científica proporcionada por el solicitante para la autorización de un plaguicida, que no sea de dominio público, o no haya sido publicada en revistas científicas o de divulgación, de cada plaguicida evaluado.

Fiscalización y Post registro de plaguicida de uso agrícola en Chile

El Decreto Ley No 3.557 de 1980 faculta al SAG para fiscalizar la fabricación, importación, distribución, venta y aplicación de plaguicidas, además fija procedimientos y sanciones.

Se complementa con la Resolución No 3.670 de 1999 que establece normas para la evaluación y autorización de plaguicidas.

A continuación, se presentan los registros asociados al proceso de importación de plaguicidas.

Certificado de Destinación Aduanera

Tabla 20 Información incluida en un certificado de destinación aduanera para plaguicidas de uso agrícola

PARÁMETRO	CERTIFICADO DE DESTINACIÓN ADUANERA
Tipo	Restringida al interesado / Restringida
Disponibilidad	Solicitud de importación
Formato	Papel
Origen	Resolución NO 1038/03 y Resolución NO 3670/99
Almacenamiento	Privado (interesado) / Oficina Puerto Ingreso
Información que contiene	- Fecha recepción; - Puerto de ingreso; - Datos del importador; - País de origen - Descripción de mercadería (producto y peso); - Lugar de depósito propuesto.

Informe de Inspección de Productos Agropecuarios

Tabla 21 Contenidos del informe de inspección de productos agropecuarios

PARÁMETRO	INSPECCIÓN DE PRODUCTOS AGROPECUARIOS
Tipo	Restringida al interesado / Restringida
Disponibilidad	Solicitud de importación
Formato	Papel
Origen	Resolución NO 1038/03 y Resolución NO 3670/99
Almacenamiento	Privado (interesado) / Oficina Puerto Ingreso
Información que contiene	- Oficina que inspecciona; - Identificación del importador; - Disposición del SAG: autoriza definitivamente, rechaza, incorpora acciones cuarentenarias; - Observaciones (toma de muestras, exigencias, etc.)

Hoja de seguridad del plaguicida

Tabla 22 Informe de hoja seguridad de plaguicida de uso agrícola

PARÁMETRO	HOJA DE SEGURIDAD DE PLAGUICIDA
Tipo	Pública / Restringida al interesado
Disponibilidad	Solicitud de importación
Formato	Papel
Origen	Resolución No 1038/03 y Resolución No 3670/99
Almacenamiento	Pública / Privado (interesado) o en Oficina Puerto Ingreso
Información que contiene	- Oficina que inspecciona;

Certificado Original de Análisis de Composición

Tabla 23 Certificado de análisis de composición

PARÁMETRO	ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN
Tipo	Restringida
Disponibilidad	Solicitud de importación
Formato	Papel
Origen	Resolución NO 1038/03 y Resolución NO 3670/99
Almacenamiento	Restringido en Oficina Puerto Ingreso
Información que contiene	- número de lote de fabricación; ingrediente activo; concentración; formulación; volumen; país de origen.

Adicionalmente, debiese existir alguna base de datos en el puerto de ingreso del SAG en la cual se ingresen los antecedentes de los plaguicidas importados anualmente, pero no se ha detectado.

Registros asociados a Formulación Nacional.

El procedimiento de importación de plaguicidas conlleva documentación asociada, solicitada por la Resolución 1038/03 y que respalda que el plaguicida formulado está autorizado y cumple con la normativa vigente.

Los principales registros asociados a este proceso, esto es, la información que se genera del proceso, se ha caracterizado mediante los siguientes parámetros:

Tabla 24 Tipo de información disponible en registro asociado a formulación nacional

PARÁMETRO	DESCRIPCIÓN
Tipo	Define qué nivel de acceso se puede tener al registro (público, restringido, etc.)
Disponibilidad	Señala dónde se encuentra el registro y/o en qué medio (papel, electrónico, etc.)
Origen	Específica qué normativa exige que este registro exista
Almacenamiento	Señala dónde es almacenado el registro
Información que contiene	Detalla qué información se encuentra contenida en el registro.

A continuación, se presentan los registros asociados al proceso de formulación de plaguicidas.

Declaración de Inicio de Actividades y ubicación de establecimientos que operan con plaguicidas y/o fertilizantes

Tabla 25 Información requerida para la declaración de inicio de actividades y ubicación

PARÁMETRO	DECLARACIÓN DE INICIO DE ACTIVIDADES
Tipo	Restringida
Disponibilidad	Sección Inocuidad SAG y Oficinas Sectoriales SAG
Formato	Papel
Origen	Resolución NO 1038/03 y Resolución NO 5551/11
Almacenamiento	Sección Inocuidad SAG y Oficinas Sectoriales SAG
Información que contiene	<ul style="list-style-type: none"> - Identificación de la empresa; - identificación del representante legal; - Ubicación de la planta o bodega de almacenamiento o distribución - Identificación del encargado o contacto de planta o bodega - Fecha de inicio de actividades de plaguicidas.

Certificado de Análisis de Composición

Tabla 26 Información indicada en el análisis de composición

PARÁMETRO	ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN
Tipo	Restringida
Disponibilidad	Sección Inocuidad SAG y Oficinas Sectoriales SAG
Formato	Papel
Origen	Resolución NO 1038/03, Resolución NO 3670/99 y Resolución NO 5551/11
Almacenamiento	Sección Inocuidad SAG y Oficinas Sectoriales SAG
Información que contiene	- número de lote de fabricación; ingrediente activo; concentración; formulación; volumen.

Adicionalmente, debiese existir alguna base de datos en la cual se ingresen los antecedentes de los plaguicidas formulados anualmente, pero no se ha detectado.

Fiscalización de Comercio de Plaguicidas

Esta fiscalización tiene como objetivo verificar que todo plaguicida autorizado por el SAG se distribuya y comercialice de acuerdo a la normativa vigente, controlando en los lugares de acopio y almacenaje las condiciones de los productos.

La fiscalización al comercio de plaguicidas está regida por:

Tabla 27 Marco reglamentario para la fiscalización de plaguicidas agrícolas

NORMATIVA	AÑO	DESCRIPCIÓN
Decreto Ley No 3.557	1980	"Establece Disposiciones sobre Protección Agrícola", con las modificaciones introducidas por la Ley No 18.755 de 1989.
Ley No 16.558/ Ley No 20.161	1998/2007	Títulos III "Fabricación, Comercialización y Aplicación de Plaguicidas y Fertilizantes" y IV "Del Procedimiento y Sanciones".
Ley No 18.755	1989	"Orgánica del Servicio Agrícola y Ganadero" con las modificaciones introducidas por la Ley NO 19.283 de 1994 y por la Ley No 20.161 de 2007.
R. E. No 1.899	1999	Del SAG que "Establece la Obligación de Declarar al Servicio Agrícola y Ganadero los Plaguicidas Caducados".
R. E. No 2.410	1997	Del SAG que "Establece la Obligación de Declarar Ventas de Plaguicidas de Uso Agrícola".
R. E. No 3.670	1999	Del SAG que "Establece Disposiciones para la Autorización de Plaguicidas de Uso Agrícola".
R. E. No 2.195	2000	Del SAG que "Establece los Requisitos que deben cumplir las Etiquetas de los Envases de los Plaguicidas de Uso Agrícola".

Este control se aplica a nivel nacional a toda unidad económica o productiva, de personas naturales o jurídicas, donde se realice la distribución y la comercialización de plaguicidas; y a toda unidad económica o productiva de personas naturales o jurídicas donde se almacenen temporalmente

plaguicidas para su posterior distribución y/o comercialización, incluyendo bodegas de importadores, fabricantes y formuladores.

La Resolución No 5.551 de 2011 indica que los distribuidores de plaguicidas deberán comunicar al SAG la iniciación de sus actividades con indicación del lugar de ubicación de los establecimientos que operen en un plazo máximo de 30 días desde la iniciación de ésta, igualmente deberán hacerlo, los distribuidores de plaguicidas que a la fecha de esta resolución se encuentren ya establecidos, en un plazo de 30 días desde la publicación de la presente resolución.

Los principales elementos a verificar corresponden a:

- A Presentación de declaraciones obligatorias (venta semestral de plaguicidas, anual de caducados, venta y uso trimestral de bromuro metilo de concentración menor al 100%)
- B Restricción de acceso a Bodega;
- C Almacenamiento exclusivo de Plaguicidas en bodegas;
- D Plaguicidas comercializados en buen estado (vigentes, con etiqueta legal en idioma español, en envases en buen estado, otras), autorizados, que no estén prohibidos, en envase original, con composición que corresponde a la señalada en la etiqueta autorizada.

Registros asociados a Fiscalización de Comercio de Plaguicidas.

Los principales registros asociados al procedimiento de fiscalización de comercio de plaguicidas, esto es, la información que se genera del proceso, se ha caracterizado mediante los siguientes parámetros:

Tabla 28 Tipo de información asociada al comercio de plaguicidas de uso agrícola

PARAMÉTRO	DESCRIPCIÓN
Tipo	Define qué nivel de acceso se puede tener al registro (público, restringido, etc.)
Disponibilidad	Señala dónde se encuentra el registro y/o en qué medio (papel, electrónico, etc.)
Origen	Especifica qué normativa exige que este registro exista;
Almacenamiento	Señala dónde es almacenado el registro;
Información que contiene	Detalla qué información se encuentra contenida en el registro.

A continuación, se presentan los registros asociados al proceso de fiscalización de comercio de plaguicidas.

Declaración de Inicio de Actividades y ubicación de establecimientos que operan con plaguicidas y/o fertilizantes

Tabla 29 Información indicada en declaración de inicio de actividades y ubicación

PARÁMETRO	DECLARACIÓN DE INICIO DE ACTIVIDADES Y UBICACIÓN DE ESTABLECIEMIENTOS
Tipo	Restringida
Disponibilidad	Sección Inocuidad SAG y Oficinas Sectoriales SAG
Formato	Papel
Origen	Resolución NO 1038/03 y Resolución NO 5551/11
Almacenamiento	Sección Inocuidad SAG y Oficinas Sectoriales SAG
Información que contiene	- Identificación de la empresa; - identificación del representante legal; - Ubicación de la planta o bodega de almacenamiento o distribución - Identificación del encargado o contacto de planta o bodega

Acta de Fiscalización de comercio de plaguicidas

Tabla 30 Acta de fiscalización del comercio de plaguicidas

PARÁMETRO	FISCALIZACIÓN DE COMERCIO DE PLAGUICIDAS
Tipo	Restringida
Disponibilidad	Sección Inocuidad SAG y Oficinas Sectoriales SAG
Formato	Papel
Origen	Resoluciones señaladas en punto 3.5
Almacenamiento	Privado (Fiscalizado) / Restringido (Sección Inocuidad SAG y Oficinas Sectoriales SAG)
Información que contiene	No se ha detectado el actual formato del Acta, no obstante debiese contener al menos los siguientes elementos: - Identificación del fiscalizado; - Elementos a chequear en la fiscalización

Fiscalización de Bodegas y Transporte de Plaguicidas

La fiscalización del transporte de sustancias químicas clasificadas como peligrosas, entre las cuales se encuentran los plaguicidas, es una actividad realizada en conjunto con la Subsecretaría de Transportes y Telecomunicaciones y que tiene por objeto verificar que, en lo competente al SAG, el transporte nacional e internacional de plaguicidas y fertilizantes cumpla con la normativa legal vigente.

La fiscalización al transporte de plaguicidas y fertilizantes está regida por:

Tabla 31 Marco normativo asociado a la fiscalización de bodegas y transporte de plaguicidas

NORMATIVA	AÑO	DESCRIPCIÓN
Decreto Ley No 3.557	1980	Establece disposiciones sobre protección agrícola, con las modificaciones introducidas por la Ley No 18.755 de 1989.
Ley No 20.161	2007	Títulos III "Fabricación, Comercialización y Aplicación de Plaguicidas y Fertilizantes" y IV "Del Procedimiento y Sanciones".

Ley No 18.755	1989	“Orgánica del Servicio Agrícola y Ganadero” con las modificaciones introducidas por la Ley NO 19.283 de 1994 y por la Ley NO 20.161 de 2007.
---------------	------	--

Fiscalización de Uso/Aplicación de Plaguicidas

Esta fiscalización permite verificar que todo plaguicida autorizado por el SAG sea empleado en las unidades productivas y económicas del ámbito silvoagrícola, para el fin al cual ha sido destinado y de acuerdo a las instrucciones señaladas en su etiqueta, la cual a su vez se encuentra regulada por la Resolución No 2.195 de 2000.

La fiscalización al uso y aplicación de plaguicidas y fertilizantes está regida por:

Tabla 32 Normativa asociada a la fiscalización del uso/aplicación de plaguicidas

NORMATIVA	AÑO	DESCRIPCIÓN
Decreto Ley No 3.557	1980	“Establece Disposiciones sobre Protección Agrícola”, con las modificaciones introducidas por la Ley No 18.755 de 1989.
Ley No 20.161	2007	Títulos III “Fabricación, Comercialización y Aplicación de Plaguicidas y Fertilizantes” y IV “Del Procedimiento y Sanciones”.
Ley No 18.755	1989	“Orgánica del SAG” con las modificaciones introducidas por la Ley NO 19.283 de 1994 y por la Ley No 20.161 de 2007.
R. E. No 3.670	1999	Del SAG que “Establece Disposiciones para la Autorización de Plaguicidas de Uso Agrícola”.
R. E. No 2.195	2000	del Servicio Agrícola y Ganadero que “Establece los Requisitos que deben cumplir las Etiquetas de los Envases de los Plaguicidas de Uso Agrícola

Este control aplica a nivel nacional a todo plaguicida con autorización SAG -muestras experimentales autorizadas y plaguicidas importados para emergencias fitosanitarias- en toda unidad productiva y económica de índole silvoagrícola directa o indirectamente relacionada; y toda unidad relacionada al área de investigación y docencia donde se utilicen plaguicidas, tales como estaciones experimentales y universidades.

Los principales elementos a verificar corresponden a:

Condiciones de almacenamiento del plaguicida: Existencia de bodega, depósito o unidad de almacenaje de plaguicidas en predio y condiciones mínimas (acceso restringido, almacenamiento exclusivo);

Condiciones del plaguicida: En envase original, con etiqueta legal vigente, en español, legible y completa;

Tipo de plaguicida: Debe tener autorización del SAG; no debe haber plaguicidas prohibidos sin declarar;

Condiciones de aplicación del plaguicida: Que sea plaguicida autorizado, que no sea prohibido, que se use en cultivo autorizado, en dosis recomendada en etiqueta, sin viento que genere deriva;

Uso de Equipo de Protección Personal: adecuado al plaguicida indicado en la etiqueta;

Condiciones de Post aplicación: Respeto del período de reingreso para personas y animales, respeto del período de carencia, no verter residuos de plaguicidas en masas o cursos de agua;

Manejo de envases vacíos: Realizar triple lavado en envases que corresponda e inutilizar posteriormente los envases vacíos, no enterrar, quemar o disponer en basura doméstica envases vacíos sin triple lavado, reutilizar envases vacíos de plaguicidas.

Declaraciones de Plaguicidas

Con el objeto de contar con información relevante, en forma precisa y actualizada, que sirva de apoyo al Servicio para la toma de decisiones en materias que tengan relación con el uso y manejo de plaguicidas, se han dispuesto regulaciones para la captura de antecedentes respecto a: Venta de plaguicidas en forma semestral y por región y Existencia de plaguicidas caducados a nivel de comercio.

Declaración de Venta de plaguicidas: Quienes vendan plaguicidas de uso agrícola deberán presentar al SAG, en los meses de enero y julio de cada año, una declaración de las cantidades de dichos productos que hayan vendido a los agricultores durante el semestre anterior al del mes en que se presenta la declaración. Deberán incluir en la declaración las ventas efectuadas a los revendedores locales, los que no estarán afectos a la obligación de declarar. Resolución No 2.410 de 1997.

Tabla 33 Información indicada en la declaración de venta de plaguicidas

PARÁMETRO	FORMULARIO DE DECLARACIÓN DE VENTA DE PLAGUICIDAS
Tipo	Pública
Disponibilidad	Página Web SAG
Formato	Digital
Origen	Resolución 2410/97
Almacenamiento	Privado (Fiscalizado) / Restringido (Sección Inocuidad SAG y Oficinas Sectoriales SAG)
Información que contiene	- Identificación y localización del distribuidor; - Nombre comercial del producto; - NO de autorización SAG; - Cantidad vendida mensual, para primer y segundo semestre (kg o L); - Total vendido (Kg o L).

Registros asociados a Declaración de existencia de plaguicidas caducados a nivel de comercio.

Tabla 34 Información en la declaración de existencia de plaguicidas caducados

PARÁMETRO	FORMULARIO DE DECLARACIÓN DE PLAGUICIDAS CADUCADOS A NIVEL DE COMERCIO
Tipo	Pública
Disponibilidad	Página Web SAG
Formato	Digital
Origen	Resolución 432/15
Almacenamiento	Privado (Fiscalizado) / Restringido (Sección Inocuidad SAG y Oficinas Sectoriales SAG)
Información que contiene	<ul style="list-style-type: none"> - Identificación del plaguicida caducado: - Nombre comercial; - No de autorización; - Ingrediente(s) activo(s) y concentración; - Tipo de formulación; - Identificación del fabricante (nombre y origen); - Titular de la autorización; - Fecha de vencimiento del plaguicida; - Causal de caducidad (Prohibido, vencido, etiqueta dañada, envase mal estado, otra); - Tipo de envase y capacidad; - Cantidad total (Kg o L); - Identificación del propietario; - Localización del producto.

7.1.2 GESTIÓN DE PESTICIDAS DE USO DOMISANITARIOS

El Ministerio de Salud a través del ISP, es responsable de implementar el D. S. 157/05, que instruye que todos los pesticidas de uso sanitario y doméstico deben ser evaluados para ser autorizados y registrados en el registro nacional de productos. Esta norma regula las condiciones de registro, autorización, fabricación, importación, almacenamiento, envase, expendio, tenencia, transporte, distribución, promoción, publicidad, aplicación y eliminación de pesticidas de uso sanitario y doméstico, que difiere de los usados en agricultura

La Unidad de Plaguicidas y Desinfectantes está encargada de organizar y realizar las tareas que involucran dar cumplimiento a lo señalado en D.S. 157/05, que instruye que todos los productos pesticidas de uso sanitario y doméstico deben ser evaluados para ser autorizados e incluidos en el registro nacional de productos. Para, con ello, asegurar a la población que estos productos, de impacto sanitario, son eficaces y seguros

Tabla 35 Prestaciones de la unidad de plaguicidas del ISP

	PRESTACIONES QUE REALIZA LA UNIDAD DE PLAGUICIDAS
1	Autorizar los registros de productos pesticidas de uso sanitario y doméstico, y sus modificaciones.
2	Emitir certificados de libre venta y autorizaciones de uso y disposición.
3	Fiscalizar los productos en el mercado, a través de programas o denuncias presentadas por la población.
4	Autorizar la publicidad y promoción
5	Apoyar a las redes de trabajo de las Autoridad Sanitaria Regional (ASR) (capacitación y vigilancia).
6	Otros

El Reglamento D.S. 157/2005 entrega al ISP, así como a otras entidades, una serie de competencias, dentro de ellas:

- Fabricación/síntesis/formulación,
- Importación,
- Almacenamiento,
- Envase,
- Venta,
- Aplicación,
- Tenencia,
- Transporte,
- Distribución,
- Promoción y publicidad
- Eliminación.

SOBRE EL REGISTRO DE PESTICIDAS DE USO DOMISANITARIO

El ISP solicita a las personas naturales o jurídicas que iniciarán el trámite de registro, revisar los Títulos I y II del Reglamento de Pesticidas de Uso Sanitario y Doméstico, Decreto Supremo 157 del 30 de junio del 2005 del Ministerio de Salud (D.S. 157/2005), para que se interiorice del proceso y de los requisitos para obtener el registro sanitario.

En este documento se detallan los pasos a seguir para completar el Formulario de “Solicitud de Registro Producto Plaguicida de Uso Sanitario y Doméstico”, ya sea plaguicida, desinfectante o sanitizante; los cuales pueden ser importados o fabricados en el país, para efectos de su comercialización o distribución; así como los antecedentes básicos que se deben adjuntar según lo dispuesto en el D.S. 157/2005. Según este decreto, la solicitud de registro debe presentarse al Instituto de Salud Pública en el formulario aprobado por éste.

La presentación de documentos exigidos por el ISP para registrar pesticidas domisanitarios puede ser ejecutada a través de dos formas: manual o electrónica.

Mediante la forma manual, el usuario debe primero revisar el instructivo, que puede encontrar en la página web del ISP en la sección “Prestaciones”.

En el caso de presentar la documentación en forma electrónica el interesado debe registrarse previamente, lo puede realizar ingresando a Servicios en línea de la página web del ISP. Para esto, debe entregar sus datos legales señalados en la resolución NO 2669 del 2011 en la oficina de gestión de trámites, acompañándolos de una carta resumen dirigida a la Jefatura del Departamento Agencia Nacional de Medicamentos (ANAMED), y el formulario de “solicitud clave GICONA”. Con esto se le entregará una clave de acceso al sistema, que puede ser para personas naturales o empresas, que deseen registrar un producto plaguicida o desinfectante.

En el documento denominado “información general registro nacional de productos plaguicidas de uso sanitario y doméstico (pesticidas, desinfectantes, sanitizantes)”, se detallan todos los antecedentes a presentar para la elaboración de la carpeta de registro de plaguicidas.

El usuario una vez que se ha recabado los antecedentes llena el documento "SOLICITUD DE REGISTRO PRODUCTO PLAGUICIDA DE USO SANITARIO Y DOMÉSTICO (D.S 157/05)" donde se transfieren los antecedentes solicitados y con este documento más la carpeta se está en condiciones de presentar la documentación al ISP, previo a la cancelación del arancel.

Formulario y documentación para el registro

En el Formulario para solicitar registro de estos productos deberá consignar toda la información indicada en el Título II, del citado D.S. 157/2005, acompañando la documentación de respaldo.

El Formulario deberá corresponder exactamente al formato oficial en su contenido, diagrama y diseño.

Debe presentar un original y una copia junto a todos los antecedentes en Gestión de Clientes del Instituto. El original debe quedar en la carpeta y la copia le será entregada con el timbre y fecha de recepción del Instituto. Si desea registrar más de un producto deberá completar un formulario por cada producto con su respectiva copia.

Ingreso y análisis de la solicitud

La Oficina de Gestión de Clientes, asignará un número de referencia a cada solicitud, estampando la fecha de ingreso en los ejemplares del formulario y le devolverá una copia, con la constancia de su ingreso.

Las solicitudes serán enviadas internamente al Departamento Salud Ambiental, a la Unidad de Plaguicidas y Desinfectantes para iniciar el proceso de evaluación.

Las profesionales de la Unidad respectiva realizarán:

- La Evaluación Preliminar de la solicitud y de los antecedentes que la respaldan, verificando el cumplimiento de lo dispuesto en el Título II del D.S. 157/2005 en todo lo que fuese pertinente, teniendo como plazo un mes para realizar dicha evaluación.
- Una vez realizado esto, emitirán el Informe de Post Ingreso con las observaciones, el que se enviará mediante un Oficio conductor al interesado, solicitándole aclaración o envío de antecedentes, quién deberá responder en menos de 60 días (Artículo 21° del D.S. 157/2005).

La Evaluación Final corresponde a la evaluación de toda la información solicitada, durante este proceso se pueden solicitar nuevos antecedentes, dependiendo de éstos, se acuerda si el producto se registra, se desiste o se deniega.

La Emisión de la Resolución correspondiente, puede ser de tres tipos: registro, desistimiento o denegación.

Presentación de la carpeta con la información de respaldo del registro

La carpeta deberá venir claramente identificada con el nombre completo del producto y del titular solicitante del registro. Debe considerar para su preparación y posterior remisión al ISP los aspectos técnicos, administrativos y operativos que se señalan a continuación.

Formulario de Solicitud de registro

Tabla 36 Secciones del formulario de registro de plaguicidas de uso sanitario y domiciliario

PARTES DEL FORMULARIO DE SOLICITUD	
1	Carátula de presentación.
2	Responsable del registro.
3	Antecedentes del producto.
4	Condición de fabricación, importación y distribución.
5	Antecedentes legales y otros.
6	Empresas que participan en el proceso de fabricación, importación, distribución y envase.
7	Antecedentes técnicos del producto.
8	Declaración de Similaridad (solo para Plaguicidas).
9	Antecedentes analíticos.

Sobre los antecedentes del producto

En la Denominación, deberá explicitarse el nombre completo con el que se identificará el producto, entendiendo como tal el nombre de fantasía o genérico, con el tipo de formulación y su concentración (si es un producto con un solo principio activo).

Deben detallarse el nombre o nombres químicos ISO, según se trate de uno o más principios activos, seguido del respectivo No CAS.

En el Tipo de formulación debe señalarse la “forma pesticida”, de acuerdo al Manual de Especificaciones de la FAO/OMS 2010.

En el Ámbito de aplicación o de acción deberá llenar el uso para el cual está destinado el producto; debe establecer el espectro de acción y espacios donde se empleará.

En el Tipo de Venta deberá indicar, de acuerdo al Artículo 55° del D.S. 157/2005, si el plaguicida será de venta especializada o general, no pueden ser ambas condiciones de venta, sólo debe indicar una.

En el Tipo de Producto (acción) deberá indicar las especies que serán controladas por el pesticida. Puede seleccionar de esta lista, más de una alternativa o proponer otra acción biocida.

En el formulario se deberá señalar:

Si el producto es de Fabricación Nacional ya sea propia o por terceros, en el caso de esta última, debe presentar el Convenio de Fabricación y su respectiva Autorización de Planta.

Si el producto es Importado, este puede ser:

- Terminado, y la importación puede ser propia, esto es, el titular del registro es el que importa; o puede ser por terceros, esto es que se importa por encargo a otros interesados.

- A Granel y su importación puede ser propia que corresponde a que el titular del registro es el que importa o por terceros que significa que es por encargo a otros.

Si el producto es importado deberá adjuntar Certificado de Libre Venta (CLV) o el Convenio de Fabricación con el fabricante extranjero y su debida autorización de planta.

Si la Distribución del producto es propia, corresponde a que el titular del registro realiza la distribución del producto, si es por terceros debe presentar el Convenio de Distribución y su respectiva Autorización de Bodega.

Si el Control de calidad es propio corresponde a que el titular realiza el control de calidad del producto terminado, o si es por terceros debe presentar el Convenio de Control de Calidad con un laboratorio de ensayo que tengan sus metodologías acreditadas por un organismo de acreditación

Antecedentes legales de la empresa o particular que registra

Tabla 37 Antecedentes legales de la empresa para el registro de plaguicidas sanitarios y domiciliarios

ANTECEDENTES LEGALES DE LA EMPRESA O PARTICULAR QUE REGISTRA	
1	Constitución de Sociedad (antecedente obligatorio, solo en el caso de no haber sido presentados anteriormente al Instituto)
2	Poder del o de los representante(s) legal(es)
3	Convenio de Fabricación o Convenio de Envasado con el establecimiento nacional autorizado para estos efectos, suscrito ante notario
4	Convenio de Importación suscrito ante notario
5	Convenio de distribución suscrito ante notario
6	Convenio de fabricación con el fabricante extranjero
7	Certificado Oficial que acredite que el fabricante extranjero está autorizado en el país de origen, debidamente autenticado por el consulado de Chile en ese país y por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Chile
8	Certificado de Libre Venta, debidamente autenticado por el consulado de Chile en el país de origen y por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Chile
9	Convenio con Laboratorio externo de control de calidad en Chile
10	Clave de fabricación del producto terminado según el Artículo 38° del D.S. 157/2005
11	Autorización del establecimiento fabricante o envasador por parte de la SEREMI de Salud respectiva
12	Autorización de la bodega por parte de la SEREMI de Salud respectiva

Antecedentes técnicos del producto a registrar

Los siguientes antecedentes deben presentarse en la carpeta, utilizando separadores, debidamente rotulados, para identificar los distintos documentos solicitados:

Tabla 38 Antecedentes técnicos para el registro de plaguicidas y desinfectantes

ANTECEDENTES TECNICOS PARA EL REGISTRO	
A	Hoja de Datos de Seguridad de las Materia Primas y del Producto Terminado, según la Norma Chilena 2245 Of. 2003
B	Proyecto de Etiqueta de envase primario y envase secundario, con una copia de cada uno en papel y el archivo en formato editable en un solo CD*
C	Folleto Interno de Información al Usuario y/o Profesional y/o Ficha Técnica, una copia en papel y un archivo en formato editable en un CD*. Si el producto es de venta especializada debe enviar Ficha Técnica o Folleto de Información al Profesional.
D	Monografía Científica y Analítica del (o de los) Principio(s) Activo(s).
E	Monografía Científica y Analítica del Producto Terminado.

F	Ensayo de Eficacia para productos plaguicidas, desinfectantes y sanitizantes: se refiere a los ensayos de eficacia del producto que se está presentando para evaluación. Los ensayos deben ser realizados en los biotipos a los cuales va dirigido el plaguicida, por ejemplo si es un insecticida contra insectos voladores, debe anexarse un ensayo en moscas o zancudos.
G	Ensayos de toxicidad de Materias Primas:: toxicidad oral aguda, toxicidad dérmica aguda, toxicidad inhalatoria aguda entre otros
H	Ensayos de toxicidad del Producto Terminado: El solicitante debe adjuntar los análisis necesarios para avalar la categoría toxicológica del producto formulado. Ello permitirá avalar la seguridad del producto. Estos ensayos deben ser realizados en Laboratorios que tengan sus metodologías acreditadas por un organismo de acreditación, ya sea en Chile o en el extranjero. Estos contemplarán: toxicidad oral aguda, toxicidad dérmica aguda, toxicidad inhalatoria aguda, irritación ocular, sensibilización dérmica, toxicidad subcrónica, toxicidad crónica, principalmente, además puede incluir mutagénesis, carcinogénesis, toxicidad reproductiva entre otros.
I	Ensayos de Ecotoxicidad de Materias Primas y/o del Producto Terminado: El solicitante deberá incorporar el resultado del análisis toxicológico en organismos no objetivo, con el fin de evaluar el impacto ambiental que puedan crear las materias primas y/o el producto terminado. Estos ensayos deben ser realizados en Laboratorios que tengan sus metodologías acreditadas por un organismo de acreditación, ya sea en Chile o en el extranjero. En el caso de tratarse de materias primas no empleadas anteriormente en el país, pero conocidas o aceptadas en organismos internacionalmente reconocidos puede presentarse bibliografía con dichos ensayos

* Todos los archivos en formato editable mencionados deben incorporarlos en un solo CD.

Declaración de similitud (Sólo para pesticidas)

Corresponde a la mención del producto pesticida registrado vigente que contiene el o los mismos principios activos y las mismas concentraciones del producto a registrar.

Antecedentes analíticos

El solicitante debe presentar los siguientes antecedentes:

Tabla 39 Antecedentes analíticos para el registro de plaguicidas de uso sanitario

ANTECEDENTES ANALÍTICOS	
Fórmula	Debe presentar la fórmula completa, cualitativa y cuantitativamente expresada en unidades de peso (p/p), peso volumen (p/v) o volumen (v/v), del sistema métrico decimal o en unidades convencionales internacionalmente reconocidas, la que deberá venir suscrita por el profesional responsable. Deberá declarar el porcentaje de pureza del o los principios activos. Debe adjuntar una copia en papel y una en formato editable en un CD*.
Metodología Analítica del Producto Terminado	Corresponde a la mención de las metodologías empleadas para determinar y controlar los diferentes parámetros que caracterizan a un producto, estas son: - Forma, dimensiones, peso, color, aspecto, densidad, pH, entre otros, según el tipo de formulación. - Identidad y valoración del o los principios activos en el producto terminado.
Hoja de Especificaciones de Producto Terminado	Corresponde a la hoja resumen de las especificaciones de calidad del producto, define los atributos y variables que deben evaluarse, describe todas las pruebas y los análisis utilizados y establece los criterios de aceptación. Se recomienda emplear los lineamientos establecidos por la FAO 2010, cuando se trate de productos pesticidas. Debe adjuntar una copia en papel y una copia en formato editable en un CD.
Período de vigencia (efectividad) propuesto y condiciones de almacenamiento	Debe declarar el período de vigencia (fecha de vencimiento) del producto y las condiciones en las cuales debe mantenerse para ejercer su acción.
Estudio de Estabilidad	Se refiere al estudio que se requiere para avalar el período de vigencia o efectividad propuesto, en el o los envases definitivos.
Especificaciones de Materias primas	Deberá adjuntar para cada uno de los principios activos y componentes complementarios de formulación. Corresponde a la descripción de la composición fisicoquímica de las materias primas y sus propiedades.

Descripción de envases y período de vigencia	Este punto permite describir las unidades del producto destinadas a la venta general o especializada.
--	---

DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA DE REGISTRO DE PRODUCTOS QUÍMICOS DESINFECTANTES Y SANITIZANTES DE USO SANITARIO Y DOMÉSTICO

El Decreto Supremo No 157 del 22 de noviembre del 2005 regula las condiciones de registro, autorización, fabricación, importación, almacenamiento, envase, expendio, tenencia, transporte, distribución, promoción, publicidad, aplicación y eliminación de pesticidas de uso sanitario y doméstico, así como la manipulación de todos aquellos que puedan afectar la salud de las personas.

Tabla 40 Elementos del interés descritos en D.S. 157.

ARTÍCULO	
SEGUNDO	Presenta las definiciones que permitirán establecer con claridad qué es un pesticida de uso sanitario y doméstico y por tanto, el cumplimiento de este DS.
TERCERO	Define que “todo plaguicida de uso sanitario y doméstico importado o de fabricación nacional, deberá contar con registro sanitario para ser comercializado o distribuido a cualquier título en el país, en la forma y condiciones que establece el presente reglamento, exceptuándose de esta exigencia las muestras que se importen destinadas a obtener su registro.
CUARTO	Corresponderá al ISP realizar el registro de los plaguicidas de uso sanitario y doméstico, autorizar la importación para el uso y disposición en el país de aquellos internados, controlar y autorizar su publicidad y promoción”. Indica, además, que corresponderá a las SEREMI de salud, dentro de sus áreas de competencia, emitir los certificados de destinación aduanera, autorizar la fabricación de los productos plaguicidas de uso sanitario y doméstico y fiscalizar esa actividad como también la venta, distribución, aplicación, manipulación, transporte y eliminación de dichos productos, conforme a las normas del Código Sanitario y del presente reglamento. Un tema relevante es que además se le mandata al ISP prohibir pesticidas de uso sanitario y doméstico que generen riesgo para la salud de las personas
Párrafo II	De la importación”, se establece la responsabilidad de la SEREMI del lugar correspondiente, para emitir el Certificado de Destinación Aduanera (CDA) para su importación y destino a bodega particular, sin embargo, antes de su comercialización u otro destino, el ISP debe dar su visto bueno.
Párrafo III	“Del envase y rotulación”, establece todas las condiciones que deben ser consideradas para contener el pesticida (tipo de material, tamaño, forma, otras) así como la caracterización de la etiqueta y folleto, que entrega la información de las precauciones, concentración del producto y condiciones de uso “De la comercialización”, establece la autorización de dos tipos de pesticidas, los de venta general y los especializados. Los primeros deben tener una toxicidad que no sobrepase los <i>grupos III de OMS y de EPA</i> , y estar listos para su uso sin requerir manipulación o preparación; los segundos, son aquellos cuya toxicidad no sobrepase los del grupo III según OMS o EPA, los cuales generalmente requieren ser sometidos a procesos de manipulación y preparación por parte de las empresas aplicadores, previo a su uso. Los de venta general pueden venderse en comercio abierto, los de venta especializada, sólo a empresas aplicadores de pesticidas.
Párrafo IV	“De la publicidad y promoción”, se establece que estos tópicos son autorizados al momento del registro, en especial los relacionados con publicidad engañosa o algún tipo de incentivo. En definitiva, toda la información entregada al público se basará únicamente en la información entregada y validada por el ISP (sobre bases científicas). “Del Control de la calidad”, la norma entrega toda la responsabilidad de la mantención de la calidad a las empresas y usuarios. Por su parte, las empresas de fabricación, encargados de la distribución y venta, deben llevar registros.

OTRAS NORMATIVAS QUE REGULAN A LOS SANITIZANTES Y DESINFECTANTES

Tabla 41 Normativa asociada a la gestión de sanitizantes y desinfectantes

NORMATIVA	AÑO	DESCRIPCIÓN
Circular No 20	2008	<p>INSTRUCCIONES PARA LA APLICACIÓN DEL D.S. 157/2005 “REGLAMENTO DE PESTICIDAS DE USO SANITARIO Y DOMÉSTICO. Esta circular señala que los desinfectantes que hasta el 30 de diciembre del 2007 se regían por la circular 222, deberán ser registrados a partir de esta fecha por el Instituto de Salud Pública, en el sistema general de registro de plaguicidas. También establece que las pruebas de eficacia exigidas deberán ser acreditadas en la forma que se ha dispuesto mediante resolución NO 674 del 31 de enero del 2008 de Instituto de Salud Pública</p> <p>Establece las cuatro categorías de registro sanitario ISP:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Plaguicidas nuevos y plaguicidas biológicos. 2) Plaguicidas similares y Fitoplaguicidas (Derivados de extractos vegetales) 3) Desinfectantes 4) Sanitizantes
Resolución NO 3245	2013 ISP	Determina los antecedentes requeridos para acreditar la efectividad de los productos desinfectantes y sanitizantes que solicitan registro sanitario en conformidad al DS 157
Resolución No 3265	2008 MINSAL	Exime de requisitos a los productos cuyo principio activo sea hipoclorito de sodio en formulación líquida, que soliciten su registro como plaguicidas de uso sanitario y doméstico
D.S. NO 78	2012 MINSAL	Reglamento de almacenamiento de sustancias peligrosas
R.E NO 98	2015 MINSAL	Establece la obligatoriedad de incorporar evaluación microbiológica y texto rotulado gráfico a los productos farmacéuticos desinfectantes, antisépticos y sanitizantes.

REGISTROS ASOCIADOS A DESINFECTANTES Y SANITIZANTES

El encargado del registro de los Desinfectantes y Sanitizantes en Chile, corresponde a la Unidad de Plaguicidas y Desinfectantes del Instituto de Salud Pública (ISP), cuyo equipo de trabajo, está encargado de organizar y realizar las tareas que involucran dar cumplimiento a lo señalado en D.S. 157/05, que instruye que todos los productos pesticidas de uso sanitario y doméstico deben ser evaluados para ser autorizados e incluidos en el registro nacional de productos. Para, con ello, asegurar a la población que estos productos, de impacto sanitario, son eficaces y seguros.

Tabla 42 Antecedentes asociados al registro de sanitizantes y desinfectantes

A	El ISP <u>sólo registra productos terminados</u> , no incluye materias primas de sus productos.
B	El registro No contempla inventarios, ni volúmenes de producción y/o venta de los solicitantes del registro
C	El trámite se puede realizar durante todo el año y la entrega del formulario y los antecedentes requeridos se realiza en la sección de Gestión de Trámites
D	Para efectos de registro los desinfectantes y sanitizantes, podrán tener carácter de producto nuevo o similar
E	<p><u>Se considera Producto nuevo para el registro a aquel que:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> a. Cuyo ingrediente activo o su formulación se incorpora por primera vez en el registro b. Presenta una nueva utilidad respecto de una ya registrada. c. Presenta una modificación en la composición química y proporción de sus ingredientes activos o cambios en los componentes complementarios de la formulación, respecto de uno ya registrado. d. Constituye combinaciones de productos que separadamente disponen de registro sanitario, o e. Constituye una forma nueva que modifique la persistencia de los ingredientes activos de uno ya registrado.
F	<p><u>Se considera Producto similar para el registro a aquel que presenta una equivalencia con respecto a otro ya registrado</u>, comprobándose esta circunstancia mediante certificados de análisis de las sustancias activas provenientes de sus fabricantes o formuladores que demuestren que son idénticos, en alguno de los siguientes casos:</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Los resultados de los exámenes toxicológicos, examen físico – químico y de eficacia de ambos productos no difieren significativamente de los valores normalmente aceptados para ellos, sin perjuicio de su similaridad en el examen físico-químico. b. Las impurezas de significación toxicológica presentes en el producto evaluado, no difieren significativamente de las presentes en el producto registrado. c. No exista diferencia en los niveles de exposición o un cambio en las vías de exposición, respecto del registrado.
G	Los productos con una misma formulación y concentración, pero que por su presentación, cantidad o ámbitos de aplicación tengan distinto tipo de venta, deberán registrarse como productos diferentes

Tabla 43 Documentos requeridos para solicitud de registro sanitizantes y desinfectantes

A	Para obtener el registro de un Sanitizantes y/o Desinfectantes de uso sanitario y doméstico, el interesado deberá solicitarlo al ISP, llenando el FORMULARIO DE SOLICITUD REGISTRO.
B	Copia legalizada de autorizaciones pertinentes de Establecimiento Elaborador de Productos desinfectantes, químicos peligrosos o corrosivos, de Bodega, boletines de análisis de control de calidad y de eficacia, toxicidad.
C	Pago del arancel correspondiente a la prestación.
D	En el caso de tratarse de productos importados, se requiere que los documentos oficiales (Certificado de libre venta, exportación u otro), vengán consularizados y legalizados por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Chile.
E	Todos los demás documentos indicados en el instructivo. El formulario, instructivo y ficha técnica: se encuentran publicado en la página web http://www.ispch.cl/prestaciones

FORMULARIO DE SOLICITUD DE REGISTRO

Tabla 44 Secciones del formulario de registro de desinfectantes y plaguicidas

PARTES DEL FORMULARIO DE SOLICITUD DEL REGISTRO		
1	Carátula de presentación.	
2	Responsable del registro.	Deberá declarar los siguientes antecedentes del Propietario o Representante Legal: Nombre; R.U.T.; Dirección; Teléfono fijo y móvil; Correo Electrónico y Firma.
3	Antecedentes del producto.	<p>En la Denominación, deberá explicitarse el nombre completo con el que se identificará el producto, entendiendo como tal el nombre de fantasía o genérico, con el tipo de formulación y su concentración</p> <p>Deben detallarse el nombre o nombres químicos ISO, según se trate de uno o más principios activos, seguido del respectivo NO CAS.</p> <p>En el Tipo de Venta deberá indicar, de acuerdo al Artículo 55° del D.S. 157/2005, si el plaguicida será de venta especializada o general, no pueden ser ambas condiciones de venta, sólo debe indicar una.</p> <p>En el Tipo de Producto (acción) deberá indicar las especies que serán controladas por el pesticida. Puede seleccionar de esta lista, más de una alternativa o proponer otra acción biocida.</p>
4	Condición de fabricación, importación y distribución.	<p>En el formulario se deberá señalar:</p> <p>a) Si el producto es de Fabricación Nacional ya sea propia o por terceros, en el caso de esta última, debe presentar el Convenio de Fabricación y su respectiva Autorización de Planta.</p> <p>b) Si el producto es Importado, este puede ser: Terminado o Granel, adjuntando el Certificado de Libre Venta (CLV) o el Convenio de Fabricación con el fabricante extranjero y su debida autorización de planta. Documento oficial del país exportador, certificando que el producto cuenta con las autorizaciones que la legislación de ese país exige para su fabricación y venta.</p> <p>c) Si la Distribución del producto es propia, corresponde a que el titular del registro realiza la distribución del producto, si es por terceros debe presentar el Convenio de Distribución y su respectiva Autorización de Bodega.</p> <p>d) Si el Control de calidad es propio corresponde a que el titular realiza el control de calidad del producto terminado, o si es por terceros debe presentar el Convenio de Control de Calidad con un laboratorio de ensayo que tengan sus metodologías acreditadas por un organismo de acreditación.</p>
5	Antecedentes legales y otros.	<ul style="list-style-type: none"> - Constitución de Sociedad (antecedente obligatorio, solo en el caso de no haber sido presentados anteriormente al Instituto); - Poder del o de los representante(s) legal(es); - Convenio de Fabricación o Convenio de Envasado con el establecimiento nacional autorizado para estos efectos, suscrito ante notario; - Convenio de Importación suscrito ante notario; - Convenio de distribución suscrito ante notario; - Convenio de fabricación con el fabricante extranjero; - Certificado Oficial que acredite que el fabricante extranjero está autorizado en el país de origen, debidamente autenticado por el consulado de Chile en ese país y por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Chile; - Certificado de Libre Venta, debidamente autenticado por el consulado de Chile en el país de origen y por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Chile; - Convenio con Laboratorio externo de control de calidad en Chile; - Clave de fabricación del producto terminado según el Artículo 38° del D.S. 157/2005; - Autorización del establecimiento fabricante o envasador por parte de la SEREMI de Salud respectiva; <p>Autorización de la bodega por parte de la SEREMI de Salud respectiva</p>
6	Empresas que participan en el proceso de	En el caso de solicitarse el registro de un producto en que intervengan diversos establecimientos, corresponderá señalarlos en este cuadro del formulario; deberán detallarse todas las empresas que

	fabricación, importación, distribución y envase.	<p>participan en este proceso, para lo cual se solicita el nombre de la empresa, su dirección y el tipo de operación que efectúa, de acuerdo a las 8 opciones establecidas en el formulario:</p> <ol style="list-style-type: none"> Fabricación Nacional: Terminado-Granel-Semielaborado-Acondicionamiento local. Fabricación extranjera: Terminado-Granel-Semielaborado. Señalar al responsable de la distribución en Chile. Señalar al responsable de realizar el proceso de importación. Señalar al responsable del envasado del producto en Chile. Indicar la bodega donde se almacenará el producto y desde donde se va a distribuir, autorizada por la Autoridad Sanitaria Regional de Salud (SEREMI). Indicar el Laboratorio responsable de realizar el control de calidad en Chile, la que deberá indicarse siempre, aun cuando corresponda al mismo fabricante. La opción correspondiente a "Otros" deberá explicarse en la línea punteada al final del recuadro, la que permite aclarar situaciones que pueden generar confusión derivada de los antecedentes legales, tales como distribuidores intermediarios en el extranjero, entre otros.
7	Antecedentes técnicos del producto.	<ol style="list-style-type: none"> Hoja de Datos de Seguridad de las Materia Primas y del Producto Terminado, según la Norma Chilena 2245 Of. 2003 Proyecto de Etiqueta de envase primario y envase secundario, con una copia de cada uno en papel y el archivo en formato editable. Folleto Interno de Información al Usuario y/o Profesional y/o Ficha Técnica, una copia en papel y un archivo en formato editable. Si el producto es de venta especializada debe enviar Ficha Técnica o Folleto de Información al Profesional. Monografía Científica y Analítica del (o de los) Principio(s) Activo(s). Monografía Científica y Analítica del Producto Terminado. Ensayo de Eficacia para productos desinfectantes y sanitizantes Ensayos de toxicidad del Producto Terminado: El solicitante debe adjuntar los análisis necesarios para avalar la categoría toxicológica del producto formulado. Ello permitirá avalar la seguridad del producto. Estos contemplarán: toxicidad oral aguda, toxicidad dérmica aguda, toxicidad inhalatoria aguda, irritación ocular, sensibilización dérmica, toxicidad subcrónica, toxicidad crónica, principalmente, además puede incluir mutagénesis, carcinogénesis, toxicidad reproductiva entre otros. El sistema de clasificación toxicológica es según OMS y EPA. Ensayos de Ecotoxicidad de Materias Primas y/o del Producto Terminado: El solicitante deberá incorporar el resultado del análisis toxicológico en organismos no objetivo, con el fin de evaluar el impacto ambiental que puedan crear las materias primas y/o el producto terminado. Estos ensayos deben ser realizados en Laboratorios que tengan sus metodologías acreditadas por un organismo de acreditación, ya sea en Chile o en el extranjero. En el caso de tratarse de materias primas no empleadas anteriormente en el país, pero conocidas o aceptadas en organismos internacionalmente reconocidos puede presentarse bibliografía con dichos ensayos.
8	Declaración de Similaridad	Corresponde a la mención del producto pesticida registrado vigente que contiene el o los mismos principios activos y las mismas concentraciones del producto a registrar. (Sólo para plaguicidas)
9	Antecedentes analíticos.	<p>Fórmula: Debe presentar la fórmula completa, cualitativa y cuantitativamente expresada en unidades de peso peso (p/p), peso volumen (p/v) o volumen volumen (v/v), del sistema métrico decimal o en unidades convencionales internacionalmente reconocidas, la que deberá venir suscrita por el profesional responsable. Deberá declarar el porcentaje de pureza del o los principios activos. Debe adjuntar una copia en papel y una en formato editable.</p> <p>Metodología Analítica del Producto Terminado: Corresponde a la mención de las metodologías empleadas para determinar y controlar los diferentes parámetros que caracterizan a un producto, estas son:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Forma, dimensiones, peso, color, aspecto, densidad, pH, entre otros, según el tipo de formulación. - Identidad y valoración del o los principios activos en el producto terminado. <p>Si la metodología no es internacionalmente aceptada o ha sido modificada se deberá adjuntar la monografía respectiva.</p> <p>Hoja de Especificaciones de Producto Terminado: Corresponde a la hoja resumen de las especificaciones de calidad del producto, define los atributos y variables que deben evaluarse, describe todas las pruebas y los análisis utilizados y establece los criterios de aceptación. Debe adjuntar una copia en papel y una copia en formato editable en un CD.</p>

		<p>Período de vigencia (efectividad) propuesto y condiciones de almacenamiento: Debe declarar el período de vigencia (fecha de vencimiento) del producto y las condiciones en las cuales debe mantenerse para ejercer su acción.</p> <p>Estudio de Estabilidad: Se refiere al estudio que se requiere para avalar el período de vigencia o efectividad propuesto, en el o los envases definitivos.</p> <p>Especificaciones de Materias primas: Deberá adjuntar para cada uno de los principios activos y componentes complementarios de formulación. Corresponde a la descripción de la composición fisicoquímica de las materias primas y sus propiedades.</p> <p>Se recomienda enviar el certificado de análisis de un lote de fabricación para verificar la pureza de las materias primas declaradas.</p>
10	Otros	Descripción de envases, período de vigencia y condición de almacenamiento

Este formulario de solicitud de registro se debe presentar en un original y una copia junto a todos los antecedentes en Gestión de Clientes del Instituto. El original debe quedar en la carpeta y la copia le será entregada con el timbre y fecha de recepción del Instituto. Si desea registrar más de un producto deberá completar un formulario por cada producto con su respectiva copia. El ISP, mediante resolución fundada determinará los antecedentes que se requieran para acreditar cada una de las condiciones exigidas por el presente reglamento

ESPECIFICACIONES TÉCNICAS PARA EL REGISTRO PRODUCTOS DESINFECTANTES Y SANITIZANTES TERMINADOS

Tabla 45 Especificaciones técnicas para el registro de productos desinfectantes y sanitizantes

ENSAYOS GENERALES:	<p>A. Descripción: Se debe hacer una completa descripción del producto desinfectante, según su formulación, que incluya aspecto, dimensiones, forma, color, olor, solo en el caso de que estas no presenten un riesgo para la salud del analista químico.</p> <p>B. pH: Debe ser declarado para soluciones en estado puro a una temperatura de 25°C. Para el caso de los productos cuyo pH no pueda medirse en forma pura, estos deben evaluarse en dilución al 1% p/p y expresarse en rango de pH aceptado. Una mezcla se considerará corrosiva cutánea si tiene un $\text{pH} \leq 2$ o $\geq 11,5$.</p> <p>C. Densidad: Debe ser declarado para soluciones acuosas, indicando la temperatura en la que fue medida, y debe expresarse el rango en unidades de g/ml.</p> <p>D. Identificación: El ensayo de identificación debe establecer la identidad del principio activo, en el producto terminado y debe ser capaz de discriminar entre sustancias de estructuras moleculares parecidas.</p> <p>E. Valoración: Es la determinación del contenido de ingrediente activo, en el producto terminado, expresado en concentración %p/p, %p/v o %v/v, indicando los límites, sabiendo que los resultados analíticos y las concentraciones son variables.</p>
ENSAYOS ESPECÍFICOS SEGÚN TIPO DE FORMULACIÓN	Las especificaciones deben contener a lo menos un (1) ensayo específico, por formulación, adicional a los ensayos generales, mencionados en el punto VI de la <i>guía para la realización y presentación de especificaciones de producto terminado de productos desinfectantes y sanitizantes de uso sanitario y doméstico ISP</i> .
ESTUDIOS DE ESTABILIDAD:	Se encuentran definidos en: " <i>guía para la realización y presentación de estudios de estabilidad de productos plaguicidas de uso sanitario y doméstico</i> " ISP. Departamento de Salud Ambiental. Unidad de Plaguicidas y Desinfectantes.
ESTUDIOS DE EFICACIA:	Se encuentran definidos en: " <i>Guía general para la realización y presentación de ensayos de eficacia de productos desinfectantes y sanitizantes de uso sanitario y doméstico</i> " ISP. Departamento de Salud Ambiental. Unidad de Plaguicidas y Desinfectantes. 23/12/2014 Incluye metodologías OCDE, EPA, AOAC, ASTM y UNE

PROCESO DESDE LA RECEPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES POR PARTE DEL SOLICITANTE DEL REGISTRO AL ISP

Las solicitudes serán enviadas internamente al Departamento de Salud Ambiental, a la Unidad de Plaguicidas y Desinfectantes para iniciar el proceso de evaluación.

Las profesionales de la Unidad respectiva realizarán:

- La Evaluación Preliminar de la solicitud y de los antecedentes que la respaldan, verificando el cumplimiento de lo dispuesto en el Título II del D.S. 157/2005 en todo lo que fuese pertinente, teniendo como plazo un mes para realizar dicha evaluación,
- Una vez realizado esto, emitirán el Informe de Post Ingreso con las observaciones, el que se enviará mediante un Oficio conductor al interesado, solicitándole aclaración o envío de antecedentes, quién deberá responder en menos de 60 días (Artículo 21° del D.S. 157/2005),
- La Evaluación Final corresponde a la evaluación de toda la información solicitada, durante este proceso se pueden solicitar nuevos antecedentes, dependiendo de éstos, se acuerda si el producto se registra, se desiste o se deniega,
- La Emisión de la Resolución correspondiente, puede ser de tres tipos: REGISTRO, DESISTIMIENTO Y DENEGACIÓN.

El Instituto deberá conceder o denegar un registro, mediante resolución fundada, en un plazo no superior a seis meses, contados desde la recepción conforme de todos los antecedentes exigidos en la solicitud de registro sanitario. Este plazo podrá prorrogarse mediante resolución fundada cuando, debido a un caso fortuito o fuerza mayor, se haga indispensable.

VIGENCIA DEL REGISTRO

El registro sanitario de Desinfectantes y Sanitizantes, es válido por un período de cinco años, contados desde la fecha de su otorgamiento y podrá ser renovado previa solicitud del interesado, acompañada de la información que corresponda según la normativa vigente.

MODIFICACIONES AL REGISTRO SANITARIO

El titular del registro podrá solicitar modificaciones al registro en lo que se refiere al período de efectividad; la presentación o contenido del envase; el tipo del mismo; su rotulado gráfico; folletos para promoción, leyendas publicitarias y procedencia.

Todo registro sanitario podrá ser transferido por quien lo obtuvo a otra persona natural o jurídica que dé cumplimiento a las normas establecidas en el presente reglamento. Esta transferencia deberá ser acreditada ante el Instituto, el que verificará el cumplimiento de los requisitos que atañen a dicho producto.

APROBACIÓN DEL REGISTRO:

El ISP concederá el registro a la empresa solicitante, mediante resolución fundada, en un plazo no superior a seis meses, contados desde la recepción conforme de todos los antecedentes exigidos en la solicitud de registro.

Una vez registrado al producto se le asignará un número de rol, con la siguiente designación:

- a. Plaguicidas P- número
- b. Desinfectantes D- número
- c. Sanitizantes S- número

CANCELACIÓN DEL REGISTRO

El Instituto de Salud Pública, podrá cancelar el registro a petición del titular si:

- Se comprueban cambios en la composición de cualquiera de los ingredientes que no estén aprobados en el registro,
- En el caso de que su ingrediente activo sea prohibido por el Ministerio de Salud,
- Cuando el Instituto determine, sobre la base de antecedentes de calidad, eficacia, toxicidad aguda o crónica, ecotoxicidad o medioambientales que un producto o sus componentes no son eficaces en su uso o presentan un riesgo superior al evaluado. En este caso en ISP podrá exigir las modificaciones necesarias del registro o de su forma de venta que garantice la seguridad en el uso del producto, dentro de un plazo determinado (60 días), suspendiendo la venta en el tiempo intermedio, si el solicitante no realiza las modificaciones pertinentes podrá cancelar el registro.

CRITERIOS DE RECHAZO DE REGISTRO

Tabla 46 Criterios de rechazo de productos

1	No cumplir con las especificaciones técnicas solicitadas por la autoridad.
2	No realizar las modificaciones o el envío de mayor información solicitada por la autoridad, a través del oficio preliminar, dentro de los plazos establecidos para completar el proceso de registro.
3	Producto no demuestra eficacia
4	Producto demuestra riesgo de toxicidad para la salud de las personas y del medio ambiente (Producto no demuestra seguridad)
5	Fabricación del producto por empresa no autorizada para su funcionamiento.

RENOVACIÓN DEL REGISTRO

Una vez terminada la vigencia del registro, el solicitante puede pedir al ISP la Renovación del Registro Sanitario. Esto consiste en la revisión de la información científica, técnica y analítica, incluida en los antecedentes del registro con el propósito de verificar el cumplimiento del D.S. 157/05 para conceder o No al titular la renovación del Registro por 5 años más, lo que le permitirá fabricar, importar, exportar o distribuir, dependiendo de las condiciones en que fue concedido el registro, el producto en cuestión. No se requiere el envío de nueva información técnica para la tramitación de la renovación del registro.

ENVASE Y ROTULACIÓN DE PRODUCTOS DESINFECTANTES Y/O SANITIZANTES

El rotulado aprobado para un producto deberá ser reproducido en sus envases primarios y secundarios. El rótulo deberá cubrir al menos un 60% de la superficie de los envases con capacidad de hasta un litro o un kilogramo de producto y el 40% de los envases que excedan dicho límite.

Los envases se rotularán en idioma castellano, con letra legible; los títulos deberán estar impresos en negrita, los textos deberán estar dispuestos en forma horizontal cuando el envase se encuentre en su posición normal, y deberá contener a lo menos las siguientes indicaciones:

Tabla 47 Indicaciones del envase de desinfectantes y sanitizantes

INDICACIONES DEL ENVASE DE DESINFECTANTES Y SANITIZANTES	
A	Nombre del producto
B	Uso común o su acción
C	Composición del producto, indicando: los nombres comunes y químicos de cada sustancia activa; El contenido de cada sustancia activa pura expresada en porcentaje de peso/peso (p/p) para formulaciones sólidas y en porcentaje de peso/volumen (p/v) para formulaciones líquidas, expresado en unidades del sistema métrico decimal. En casos especiales se expresará en otras unidades, con la aprobación previa del ISP; El contenido total de componentes complementarios de formulación, solventes y propelentes.
D	Grupo químico a que pertenece el plaguicida.
E	Nombre y dirección del fabricante o del importador, según corresponda, y de la empresa responsable de la distribución del producto en el país
F	Criterios de peligrosidad tales como: inflamable, corrosivo o explosivo.
G	La palabra "veneno" acompañada de un cráneo, con dos tibias cruzadas y al pie del mismo: H. Leyenda de Advertencia (en mayúscula): "LEA ATENTAMENTE LA ETIQUETA (Y EL FOLLETO ADJUNTO) ANTES DE USAR EL PRODUCTO
H	Instrucciones de uso.
I	Nombre común de las plagas que pueden controlarse o efectos que se pueden obtener con su aplicación
J	Precauciones para evitar daños a las personas que lo aplican o manipulan, a terceros y al medioambiente, período de reentrada;
K	Síntomas de intoxicación, primeros auxilios y antídotos cuando existan.
L	Leyendas de advertencia en forma destacada acorde a las características físico-químicas del producto y su forma de venta;
M	Teléfonos de los Centros de Información Toxicológica y los teléfonos de emergencia del fabricante o importador, todos en Chile;
N	Número de registro otorgado por el Instituto, en que figure la sigla individualizadora "I.S.P." y la partida o serie de fabricación;
O	Fecha de expiración consignada en todos los rótulos
P	Precauciones de almacenamiento y conservación.

7.2 IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL FUNCIONAMIENTO DE LOS SISTEMAS OFICIALES DE INFORMACIÓN EN MATERIA DE GESTIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS.

En esta sección se describe el funcionamiento de los sistemas oficiales de información, en detalle, de acuerdo a las competencias de las distintas instituciones públicas descritas en la sección anterior. Se excluyeron de esta sección aquellas competencias institucionales en las que no se ajustan a la definición de sistema de información de acuerdo a la definición del marco conceptual.

7.2.1 SISTEMA DE INFORMACIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS PELIGROSAS DEL LISTADO EN RESOLUCIÓN 714

La Ley No 18.164 en su Artículo 2° señala que “Para cursar cualquiera destinación aduanera respecto de productos alimenticios de cualquier tipo; de sustancias tóxicas o peligrosas para la salud; de productos farmacéuticos, alimentos de uso médico y cosméticos y de estupefacientes y sustancias psicotrópicas que causen dependencia, el Servicio de Aduanas exigirá un certificado emitido por el Servicio de Salud respectivo, en que se señale el lugar autorizado donde deberán depositarse las referidas mercancías, la ruta y las condiciones de transporte que deberá utilizarse para efectuar su traslado desde los recintos aduaneros hasta el lugar de depósito indicado. Los Servicios de Salud deberán pronunciarse respecto del certificado a que se alude en el inciso anterior, a más tardar en el plazo de tres días hábiles contado desde la fecha de la petición. En caso de rechazo, deberán hacerlo por resolución fundada”. Para estos efectos el Ministerio de Salud pone a disposición de los usuarios la plataforma denominada Autoridad Sanitaria Digital¹⁹ (ASD). En esta plataforma se puede obtener el Certificado de Destinación Aduanera (CDA) para las sustancias químicas peligrosas listadas en la Resolución 714 del Ministerio de SALud. Este documento autoriza el retiro y transporte de los productos o sustancias químicas peligrosas desde los recintos aduaneros, a la bodega o depósito donde serán almacenados. El plazo legal de respuesta es de 3 días hábiles. La normativa no especifica un tiempo de vigencia para este documento.

Tabla 48 Documentos requeridos para obtener CDA para sustancias peligrosas

Documentos requeridos para obtener CDA para sustancias peligrosas	
1	Guía de despacho o factura.
2	El recinto de almacenamiento debe contar con Resolución Sanitaria vigente emitida por la Seremi de Salud correspondiente a su jurisdicción, cuando corresponda de acuerdo al tipo de producto.

De acuerdo a la misma Ley, una vez concluida la tramitación del documento de destinación y retiradas las mercancías desde los recintos primarios de las aduanas, quedarán depositadas bajo la responsabilidad del consignatario de las mismas quien no podrá usar, consumir, vender, ceder o disponer de ellas a ningún título, sin obtener la autorización y visto bueno previo que exige la legislación vigente. Para este fin, es el interesado debe solicitar la autorización de uso y disposición de sustancias químicas peligrosas. Esta autorización permite el uso, venta, consumo, cesión y

¹⁹ <http://asdigital.minsal.cl/asdigital/>

disposición de las sustancias químicas peligrosas. Este trámite también se puede gestionar a través de la ASD.

Tabla 49 Documentación requeridas para obtener autoautorización de uso y disposición

Documentos requeridos para obtener Autorización de Uso y Disposición para sustancias peligrosas	
1	Certificado de destinación aduanera (CDA).
2	Copia de factura de compra.
3	Copia del documento que acredita que la instalación puede almacenar los productos.
4	Copia de Resolución Sanitaria de la bodega o depósito autorizado, cuando corresponda de acuerdo al tipo de producto.
5	Ficha técnica emitida por el fabricante del producto, en español.

7.2.2 DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA DE INFORMACIÓN DE PRECURSORES Y SUSTANCIAS QUÍMICAS ESENCIALES CATALOGADAS COMO SUSCEPTIBLES DE SER UTILIZADAS PARA LA FABRICACIÓN ILÍCITA DE DROGAS, ESTUPEFACIENTES O PSICOTRÓPICAS.

Bajo la Ley 20.000, en su artículo 2º, se señala que será castigado con presidio menor en su grado máximo a presidio mayor en su grado mínimo y multa de cuarenta a cuatrocientas unidades tributarias, la producción, fabricación, elaboración, distribución, transporte, comercialización, importación, exportación, posesión o tenencia de *precursores o de sustancias químicas esenciales*, con el objetivo de destinarlos a la preparación de drogas estupefacientes o sustancias sicotrópicas para perpetrar, dentro o fuera del país.

Se define como sustancias químicas controladas a la denominación genérica para Precursores, Sustancias Químicas Esenciales, Mezclas y Sales. Siendo **precursores, aquellas** sustancias químicas que pueden utilizarse en la producción, fabricación y/o preparación de drogas estupefacientes o sicotrópicas, incorporando su estructura molecular al producto final, por lo que resultan fundamentales para dichos procesos. Por su parte, se denomina **Sustancias Químicas Esenciales a aquellas** sustancias químicas que, no siendo precursores, tales como solventes, reactivos o catalizadores, pueden utilizarse en la producción, fabricación, extracción y/o preparación de drogas estupefacientes o sicotrópicas (D.S. No 1358/2007). Dichas sustancias controladas se utilizan con frecuencia en la fabricación ilícita de estupefacientes o sustancias sicotrópicas

En el artículo 55 del título V de la ley que se refiere a las medidas de control de precursores y sustancias químicas esenciales, se menciona que las personas naturales o jurídicas que produzcan, fabriquen, preparen, importen o exporten precursores o sustancias químicas esenciales catalogadas por el reglamento a que alude el artículo 58 como susceptibles de ser utilizadas para la fabricación ilícita de drogas estupefacientes o sicotrópicas, deberán inscribirse en un *registro especial que la Subsecretaría del Interior* creará para tal efecto. Sólo quienes se hayan inscrito en ese registro especial podrán efectuar las operaciones y actividades previstas en el inciso precedente con precursores y sustancias químicas esenciales catalogadas en dicho reglamento. Las inscripciones deberán ser renovadas periódicamente. En relación al registro, el artículo 56 de dicha ley refiere que para inscribirse en el registro se deberán presentar antecedentes que permitan la plena

individualización de la persona interesada y del domicilio en que funciona la industria. En caso de tratarse de una persona jurídica, se requerirán además los antecedentes de su constitución legal, el número de rol único tributario y los poderes vigentes de él o los representantes legales. Para los efectos de evaluar la circunstancia mencionada en el inciso siguiente, se deberán acompañar los certificados de antecedentes penales respectivos. La inscripción en el registro especial sólo podrá ser denegada a las personas naturales respecto de las cuales se hubiere formalizado la investigación, decretado la suspensión condicional del procedimiento prevista en el artículo 237 del Código Procesal Penal o hayan sido condenadas por alguna de las conductas punibles contempladas en esta ley o en las leyes No. 19.366 y 19.913. También se podrá denegar respecto de las personas jurídicas, cuando cualquiera de sus representantes legales o administradores, y socios en el caso de las sociedades que no sean anónimas, se encuentren en alguna de dichas situaciones. Del mismo modo, la inscripción en el registro será suspendida sí, con posterioridad a ella, se formaliza la investigación por alguno de los delitos aludidos y se cancelará, desde que se encuentre ejecutoriada la respectiva sentencia de término condenatoria. Las resoluciones judiciales aludidas en los incisos anteriores se comunicarán a la Subsecretaría del Interior tan pronto se encuentren firmes. La Subsecretaría, a la brevedad, dictará la correspondiente resolución, de carácter declarativo, y la comunicará a los interesados.

En relación al registro, el artículo 57 indica que las personas que se encuentren registradas en conformidad al artículo 55 deberán mantener un *inventario* de las existencias de las sustancias a que se refiere dicho artículo y una relación completa y actualizada del movimiento que éstas experimenten, los que deberán encontrarse disponibles para ser remitidos o examinados por la autoridad responsable del registro con la frecuencia y bajo las modalidades que el reglamento indique. Asimismo, comunicarán a la referida autoridad las operaciones de importación y exportación, con antelación a la fecha prevista para el embarque o para el envío legal de la exportación, respecto de lo cual la Subsecretaría del Interior notificará al país importador. El intercambio de información que se realice con organismos internacionales y con otros Estados, por aplicación de lo señalado en el inciso precedente, se sujetará a lo dispuesto en las convenciones y tratados internacionales, o en su defecto, al principio de reciprocidad, y se condicionará a que el Estado que reciba la información mantenga el carácter confidencial con que se le remite.

Tabla 50 Otra normativa asociada a precursores y sustancias químicas esenciales

NORMATIVA	AÑO	DESCRIPCIÓN
R.E. 3791	2015	Implementa nuevo sistema de registro de administración de sustancias químicas controladas de la subsecretaría del interior. Esta resolución establece que las personas naturales y jurídicas que soliciten inscripción en el registro a que alude el artículo 55 de la ley 20.000, deberán materializar dicho requerimiento a través del nuevo sistema informático denominado SIREGAD-SQC , que se encontrará disponible en la página web del Ministerio del Interior y Seguridad Pública. Las personas naturales y jurídicas que a la fecha de publicación del presente acto administrativo se encuentren inscritas en el Registro Especial de Usuarios de sustancias químicas controladas Registro (REUSQC), deberán realizar el trámite de migración de datos a la nueva plataforma SIREGAD-SQC hasta el día 31 de agosto del 2015 inclusive, declarar el saldo inicial hasta el 30 de Octubre del mismo año y la respectiva declaración mensual, a contar del 1 de Noviembre del 2015.
D. S. No 1358	2007	Establece normas que regulan las medidas de control de precursores y sustancias químicas esenciales dispuestas por la ley No 20.000 que sanciona el tráfico ilícito de estupefacientes y sustancias sicotrópicas. Esta normativa define a los <i>Precursores</i> como las sustancias

		<p>químicas que pueden utilizarse en la producción, fabricación y/o preparación de drogas estupefacientes o sicotrópicas, incorporando su estructura molecular al producto final, por lo que resultan fundamentales para dichos procesos y a las <i>Sustancias Químicas Esenciales</i> como las sustancias químicas que no siendo precursores, tales como solventes, reactivos o catalizadores, pueden utilizarse en la producción, fabricación, extracción y/o preparación de drogas estupefacientes o sicotrópicas.</p> <p>Por otro parte, este reglamento define un listado de 65 precursores y sustancias químicas esenciales catalogadas como susceptibles de ser utilizadas para la fabricación ilícita de drogas estupefacientes o sicotrópicas, el procedimiento de solicitud de inscripción en el registro especial, los motivos de suspensión o cancelación de la inscripción y los requisitos de los inventarios y los detalles sobre el movimiento que experimenten dichas sustancias. El artículo Tercero del reglamento establece la creación de un <i>Registro Especial de Usuarios de Sustancias Químicas Controladas</i> (REUSQC), disponiéndose en consecuencia que toda persona natural o jurídica que produzca, fabrique, prepare, importe o exporte sustancias que se encuentren calificadas como precursores o sustancias químicas esenciales, deberá registrarse en dicho Registro que es administrado por el Ministerio del Interior, con la asesoría técnica del Consejo Nacional para el Control de Estupefacientes.</p>
Oficio ordinario NO 1850	2010	<p>ESTABLECE UNA PLAZO PARA INFORMAR MOVIMIENTO DE INVENTARIO MENSUAL</p> <p>Este oficio establece nuevo plazo para informar movimientos inventario mensual por parte de las empresas inscritas en el registro REUSQC. Se ha ampliado el plazo de 5 días hábiles a 10 días hábiles, para informe de movimiento de inventario a través del sistema on-line del portal CONACE. Vigencia de este oficio es a contar del 01/12/2010.</p>
OFICIO ORDINARIO NO 1792	2010	<p>ESTABLE PLAZOS DE COMUNICACIÓN IMPORTACIÓN/EXPORTACIÓN. Este Oficio establece un plazo definido para efecto que las empresas inscritas en el Registro Especial de Usuarios de Sustancias Químicas Controladas, del Ministerio del Interior, den cumplimiento a lo dispuesto en el artículo 57 de la Ley 20.000 y el artículo duodécimo del D. S. 1.358. Dicho plazo se ha fijado con el objetivo que nuestro país cumpla en forma cabal con el compromiso asumido con Estado parte de la Convención de Viena.</p> <p>En efecto, la Convención de las Naciones Unidas contra el Tráfico Ilícito de Estupefacientes y Sustancias Sicotrópicas, 1998, establece en su artículo 12, que regula las sustancias que se utilizan con frecuencia en la fabricación ilícita de estupefacientes o sustancias sicotrópicas, numeral 10, letra a) que “ <i>Además de lo dispuesto en el párrafo 9, y a petición de la parte interesada dirigida al Secretario General, cada una de las Partes de cuyo territorio se vaya a exportar una de las sustancias que figuran en el cuadro I velará porque, antes de la exportación, sus autoridades competentes proporcionen la siguiente información a las autoridades competentes del país importador:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> i) <i>El nombre y la dirección del exportador y de importador y, cuando sea posible, del consignatario;</i> ii) <i>El nombre de la sustancia que figura en el Cuadro I.</i> iii) <i>La cantidad de la sustancia que se ha de exportar.</i> iv) <i>El punto de entrada y la fecha de envío previstos</i> v) <i>Cualquier otra información mutuamente las Partes”</i> <p>En cumplimiento de lo dispuesto en el artículo precedente de la Convención de Viena, la ley 20.000 que sanciona el tráfico ilícito de estupefacientes y sustancias sicotrópicas, en su artículo 57 establece que “ <i>Las personas que se encuentren registradas en conformidad al artículo 55 deberán mantener un inventario de las existencias de las sustancias a que se refiere dicho artículo y una relación completa y actualizada del movimiento que éstas experimenten, los que deberán encontrarse disponibles para ser remitidos o examinados por la autoridad responsable del registro con la frecuencia y bajo las modalidades que el reglamento indique. Asimismo, comunicarán a la respectiva autoridad las operaciones de importación y exportación, con antelación a la fecha prevista para el embarque o para el envío legal de exportación, respecto de lo cual el Ministerio del Interior, notificará al país importador”.</i></p> <p>Finalmente el artículo Duodécimo del D.S. NO 1.358, establece que “<i>las personas naturales o jurídicas que se encuentren inscritas en el REUSQC, y tengan previsto efectuar una operación de importación o exportación de alguna de las sustancias químicas controladas pertenecientes a las Listas I y II, deberán comunicar tal situación al Ministerio del Interior, mediante los formularios que se pondrán a disposición para tales efectos. En el caso de las importaciones, la comunicación deberá presentarse con la debida antelación, de tal forma</i></p>

		<p><i>que el Ministerio del Interior, si es consultado por la autoridad del país exportador, pueda informar oportunamente.</i></p> <p>Se dispone que a partir del 1° de diciembre del 2010, dicha comunicación debe ser efectuada con una antelación mínima de 5 días de la fecha prevista para el embarque o para el envío legal de la exportación</p>
--	--	---

SISTEMAS DE INFORMACIÓN ASOCIADOS A PRECURSORES Y SUSTANCIAS QUÍMICAS ESENCIALES

Tabla 51 Sistema de información asociados a precursores y sustancias químicas esenciales

	REUSQC: REGISTRO ESPECIAL DE USUARIOS DE SUSTANCIAS QUÍMICAS CONTROLADAS	SIREGAD-SQC: SISTEMA DE REGISTRO Y ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS CONTROLADAS
FECHA	Con fecha 17 de abril de 2007	2015
DESCRIPCIÓN	Entidad gubernamental del Ministerio del Interior y Seguridad Pública, que tiene por objeto controlar y vigilar la producción, preparación, fabricación, transformación, almacenamiento, importación, exportación, comercialización, transporte y cualquier otro tipo de actividad relativa a sustancias químicas precursoras de drogas ilícitas, ya sea por personas naturales o jurídicas . Además de recoger información fidedigna y exacta, proporcionada directamente por quienes tienen a su cargo el manejo de sustancias químicas en el país.	Para dar cumplimiento a la Resolución Exenta NO3.791/2015 del Ministerio del Interior, se implementa un nuevo sistema de registro y administración de sustancias químicas controladas de la Subsecretaría del Interior, denominado "Sistema de Registro y Administración de Sustancias químicas Controladas SIREGAD-SQC".
INSCRIPCIÓN	<p>Para poder evaluar si se puede inscribir en el REUSQC, se debe completar un cuestionario de inscripción, el cual se deberá enviarlo al correo electrónico: quimicos@interior.gov.cl. Este documento pasará a una evaluación por especialistas químicos quienes comunicarán a la persona natural o jurídica si se debe o no inscribir en el Registro. En caso de proceder la inscripción se debe seguir con los siguientes puntos.</p> <p>A.- Llenar la solicitud de inscripción. B.- Enviar la solicitud anterior C.- Completar el formulario de inscripción íntegramente junto a los documentos:</p> <ol style="list-style-type: none"> Nombre y RUT de Socios, Representantes legales y Supervisor(a) del Área de Sustancias Químicas de la empresa. Antecedentes de las plantas y/o bodegas que la empresa posee. Información de las sustancias químicas y productos a registrar. <p>Para finalizar el proceso debe presentar ante el abogado del Departamento de Sustancias Químicas Controladas de la División de Estudios del Ministerio del Interior y Seguridad Pública, de lunes a viernes entre las 9.00 y las 17.00 horas (Palacio de La Moneda S/N, Of. 200), los siguientes documentos: <u>Personas Naturales:</u></p>	<p>Para poder evaluar si se debe inscribir en el Registro Especial de Usuarios de Sustancias Químicas Controladas, debe completar el cuestionario de inscripción y enviarlo al correo electrónico: quimicos@interior.gov.cl. Este documento pasará a una evaluación por especialistas químicos quienes comunicarán a la persona natural o jurídica si se debe o no inscribir en el Registro. En caso de proceder la inscripción se debe seguir con los siguientes puntos:</p> <p>A.- Llenar la solicitud de inscripción. B.- Enviar la solicitud anterior C.- Completar el formulario de inscripción íntegramente junto a los mismos documentos solicitados en el REUSQC. Para finalizar el proceso debe presentar ante el abogado del Departamento de Sustancias Químicas Controladas de la División de Estudios del Ministerio del Interior y Seguridad Pública, de lunes a viernes entre las 9.00 y las 17.00 horas (Palacio de La Moneda S/N, Of. 200), los siguientes documentos: <u>Personas Naturales:</u></p> <p>A) Nombre, nacionalidad, profesión u oficio y domicilio. B) Lugar o lugares en que desarrolla la actividad económica con las Sustancias Químicas Controladas. C) Certificado de nacimiento.</p>

<p>A) Nombre, nacionalidad, profesión u oficio y domicilio.</p> <p>B) Lugar o lugares en que desarrolla la actividad económica con las Sustancias Químicas Controladas.</p> <p>C) Certificado de nacimiento.</p> <p>D) Copia autorizada ante notario de su Cédula de Identidad.</p> <p>E) Certificado de antecedentes penales con una antigüedad no superior a treinta días corridos contados desde la fecha de su emisión.</p> <p>F) Copia autorizada ante notario de documento en que conste su iniciación de actividades ante el Servicio de Impuestos Internos para realizar alguna de las operaciones precedentemente mencionadas.</p> <p>G) Certificado de residencia emitido por la autoridad correspondiente.</p> <p>H) Copia autorizada ante notario de patente municipal que corresponda, al día, otorgada por la Municipalidad respectiva.</p> <p><u>Personas Jurídicas:</u></p> <p>A) Copia autorizada ante notario de los documentos en que conste su constitución legal.</p> <p>B) Poderes vigentes del o los representantes legales.</p> <p>C) Certificado de la autoridad correspondiente que acredite la vigencia de la persona jurídica. Este documento no podrá tener una antigüedad superior a treinta días corridos contados desde la fecha de su emisión</p> <p>D) Copia autorizada ante notario de documento en que conste su iniciación de actividades ante el Servicio de Impuestos Internos para realizar alguna de las operaciones precedentemente mencionadas</p> <p>E) Nombre, nacionalidad, profesión u oficio y domicilio de los representantes legales o administradores, adjuntando en este caso los respectivos certificados de antecedentes penales con una antigüedad no superior a 30 días corridos contados desde la fecha de su emisión. Además, tratándose de sociedades que no sean anónimas, se deberá acompañar certificado de antecedentes, con la misma antigüedad señalada, de cada uno de los socios que la integran.</p> <p>F) Copia autorizada ante notario del Rol Único Tributario</p> <p>G) Indicación del domicilio o domicilios de la persona jurídica</p> <p>H) Copia autorizada ante notario de patente municipal que corresponda, al día, otorgada por la Municipalidad respectiva.</p> <p>Los antecedentes indicados serán evaluados por el Ministerio del Interior, con la asesoría técnica del Consejo Nacional para el Control de Estupefacientes, procediéndose una vez</p>	<p>D) Copia autorizada ante notario de su Cédula de Identidad.</p> <p>E) Certificado de antecedentes penales con una antigüedad no superior a treinta días corridos contados desde la fecha de su emisión.</p> <p>F) Copia autorizada ante notario de documento en que conste su iniciación de actividades ante el Servicio de Impuestos Internos para realizar alguna de las operaciones precedentemente mencionadas.</p> <p>G) Certificado de residencia emitido por la autoridad correspondiente.</p> <p>H) Copia autorizada ante notario de patente municipal que corresponda, al día, otorgada por la Municipalidad respectiva.</p> <p><u>Persona Jurídica:</u></p> <p>A) Copia de los documentos en que conste su constitución legal: Copia de escritura de constitución y de sus modificaciones.</p> <p>B) Copia de publicación del extracto.</p> <p>C) Copia de inscripción en el Registro de Comercio con vigencia, con antigüedad no superior a 30 días corridos.</p> <p>D) Copia simple de documentos en que constan los poderes vigentes del o los representantes legales.</p> <p><u>Sociedades Anónimas:</u></p> <p>A) Acta de junta de accionistas o su reducción a escritura pública en que se designe el Directorio.</p> <p>B) Acta de sesión de directorio en que se nombre al Gerente General y apoderados.</p> <p>C) En el caso de poderes inscritos deberá acompañarse certificado del Registro de Comercio de vigencia de los poderes con una antigüedad no superior a 30 días.</p> <p><u>Sociedades de Responsabilidad Limitada:</u></p> <p>A) Copia de escritura de constitución u otra (por ejemplo, escritura de mandato).</p> <p>B) Copia autorizada ante notario de documento en que conste su iniciación de actividades ante el Servicio de Impuestos Internos</p> <p>C) Nombre, nacionalidad, profesión u oficio y domicilio de los representantes legales (Directores y Gerente General en las Sociedades Anónimas y Representantes en otras Sociedades) o administradores, adjuntando en este caso los respectivos certificados de antecedentes penales con una antigüedad no superior a 30 días corridos contados desde la fecha de su emisión. Además, tratándose de sociedades que no sean anónimas, se deberá acompañar certificado de antecedentes, con la misma antigüedad señalada, de cada uno de los socios que la integran.</p> <p>A) Copia autorizada ante notario del Rol Único Tributario</p>
---	---

	<p>analizado cada caso a aceptar o rechazar la inscripción de la persona natural o jurídica en el Registro Especial de Usuarios de Sustancias Químicas Controladas. Dicha decisión será comunicada por escrito al interesado por medio de carta certificada enviada al domicilio indicado por el solicitante en su solicitud y se entenderá practicada a contar del tercer día siguiente a su recepción en la oficina de correos que corresponda. El Ministerio del Interior dispondrá de un plazo máximo de 60 días hábiles para aceptar o rechazar la inscripción antes señalada, contados desde la recepción de la solicitud y antecedentes respectivos. Sólo las personas que se hayan inscrito en el Registro mencionado podrán efectuar las operaciones y actividades previstas en el inciso primero de este artículo, con las sustancias químicas controladas.</p>	<p>B) Indicación del domicilio o domicilios de la persona jurídica</p> <p>C) En caso que cuente entre sus socios a otra persona jurídica, deberán indicar la razón social de ésta o éstas, su porcentaje de participación e indicar su representante y documentos en que conste la existencia legal de la sociedad</p> <p>D) Copia autorizada ante notario de patente municipal que corresponda, al día, otorgada por la Municipalidad respectiva</p> <p>E) Formulario de solicitud de inscripción.</p>
Actualización de la información	<p>EL REUSQC, deberá actualizar bialmente su respectiva inscripción, remitiendo al Ministerio del Interior entre los meses de mayo y junio del año correspondiente la siguiente documentación:</p> <p><u>Personas Naturales:</u></p> <p>A) Certificado de residencia emitido por la autoridad correspondiente,</p> <p>B) Indicación del lugar o lugares en que desarrolla su actividad económica con las Sustancias Químicas Controladas.</p> <p>C) Copia autorizada ante notario de patente municipal que corresponda, al día, otorgada por la Municipalidad respectiva.</p> <p><u>Personas Jurídicas:</u></p> <p>A) Certificado de la autoridad correspondiente que acredite la vigencia de la persona jurídica. Este documento no podrá tener una antigüedad superior a treinta días contados desde la fecha de su emisión;</p> <p>B) Indicación del domicilio o domicilios de la persona jurídica</p> <p>C) Copia autorizada ante notario de patente municipal que corresponda, al día, otorgada por la Municipalidad respectiva. Sólo una vez cumplido lo anterior por la persona natural o jurídica, se entenderá renovada su inscripción en el presente Registro</p>	<p>Los inscritos en el registro de usuarios de químicos controlados deben actualizar su membresía cada dos años. Asimismo, deben entregar al Departamento de Sustancias Químicas Controladas de la División de Estudios del Ministerio del Interior y Seguridad Pública, cuyas oficinas se encuentran en el Palacio de La Moneda S/N Oficina 200, la siguiente documentación:</p> <p><u>Personas Naturales:</u></p> <p>A) Certificado de residencia emitido por la autoridad correspondiente.</p> <p>B) Indicación del lugar o lugares en que desarrolla su actividad económica con las sustancias químicas controladas.</p> <p>C) Copia autorizada ante notario de patente municipal que corresponda, al día, otorgada por la municipalidad respectiva.</p> <p><u>Personas Jurídicas:</u></p> <p>A) Certificado de la autoridad correspondiente que acredite la vigencia de la persona jurídica. Este documento no podrá tener una antigüedad superior a treinta días contados desde la fecha de su emisión.</p> <p>B) Indicación del domicilio o domicilios de la persona jurídica.</p> <p>C) Copia autorizada ante notario de patente municipal que corresponda, al día, otorgada por la municipalidad respectiva.</p> <p>D) Sólo una vez cumplido este trámite, la persona natural o jurídica podrá entender renovada su inscripción en el registro.</p>
Sancciones	De 40 a 1000 Unidades Tributarias Mensuales.	En caso de infracción la empresa puede pagar multas entre 40 A 1000 UTM.
Rechazo de inscripción	La inscripción en el Registro Especial sólo podrá ser denegada a quienes se les haya formalizado la investigación, decretado suspensión condicional del procedimiento o hayan sido condenados por delitos sancionados por la Ley NO 20.000 de Drogas. Lo mismo rige para las	El mismo criterio de rechazo del Registro Especial

	personas jurídicas, en el caso que alguno de sus representantes legales, administradores o socios se encuentren en alguna de dichas situaciones, para lo cual deberán acompañar los antecedentes penales respectivos. La inscripción puede ser suspendida sí, con posterioridad a ella, se formaliza una investigación por delitos sancionados por la Ley de Drogas.	
Plataforma electrónica asociada	https://reusqc.interior.gob.cl/inicio/quimicos_inicio.php	http://www.interior.gob.cl/departamento-de-sustancias-quimicas-controladas/ http://siregad.interior.gob.cl/OficinaSiregad/tramites/tramitesDisponibles.do http://siregad.interior.gob.cl/OficinaSiregad/tramites/tramitesDisponibles.do?action=detalleArea&id=REIN

INVENTARIO DE EXISTENCIAS: En ambos sistema de información, se deberá mantener un inventario de las existencias de las sustancias controladas y una relación completa y actualizada del movimiento que éstas experimenten, los que deberán encontrarse disponibles para ser remitidos o examinados por la autoridad responsable del registro con la frecuencia y bajo las modalidades que el reglamento indique.

Actualmente los inventarios deben ser declarados mensualmente en los portales del Departamento de Sustancias Químicas Controladas (Nos referimos a “portales”, pues aún los interesados deben hacerlo por REUSQC y próximamente por SIREGAD-SQC). El plazo para reportar todos los ingresos y egresos ocurridos en cada bodega y por cada sustancia/mezcla controlada inscrita, vence al término del décimo día hábil de cada mes.

7.2.3 DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA DE INFORMACIÓN DE EXPLOSIVOS Y PRECURSORES DE EXPLOSIVOS

Los explosivos y productos químicos precursores se encuentran controlados por la Ley 17.798 y su reglamentario complementario de la Ley, sobre control de armas y elementos similares. Corresponde a la Dirección General de Movilización Nacional (DGMN) la supervigilancia y control de los explosivos y productos químicos controlados por la Ley 17.798.

Se considera “explosivo” a toda sustancia o mezcla de sustancias químicas, sólidas o líquidas, que por la liberación rápida de energía produce o puede producir, dentro de un cierto radio, un aumento de presión y generación de calor, llama y ruido. Estos elementos de uso industrial son utilizados en la pequeña, mediana y gran minería u otras empresas que por la naturaleza de sus actividades requieren de su utilización. A su vez los productos químicos controlados son aquellos susceptibles de ser usados o empleados en la fabricación de explosivos, o que sirven de base y/o energizantes para su elaboración.

Existe un listado de productos químicos explosivos bajo control de la Ley 17.798

De los procedimientos administrativos

Corresponde a la DGMN ejercer la supervigilancia sobre la fabricación, armaduría, transformación, reparación, importación, exportación y transferencia, comercialización, instalaciones, transporte, almacenamiento, distribución, tenencia, posesión, inscripciones, porte, empleo, manipulación, consumo y la celebración de cualquier convención que tenga por objeto armas, explosivos y elementos sujetos a control. En conformidad con sus atribuciones, la DGMN debe resolver las siguientes solicitudes:

Tabla 52 Procedimientos administrativos asociados al control de explosivos y sustancias precursoras

SOLICITUDES DGMN	
A	Inscripción como importador, exportador y comerciante de elementos y productos sometidos a control.
B	Instalación, construcción o modificación de instalaciones destinadas a la fabricación, armaduras, reparaciones, campos de prueba, almacenamiento o depósito de elementos y productos sometidos a control.
C	De Consumidor habitual de munición, de explosivos y de productos químicos.
D	Autorización de tránsito por el territorio nacional de los elementos sometidos al control de la Ley y este Reglamento incluyendo los provenientes del extranjero.

A efectos de la Ley, las autoridades fiscalizadoras son las Comandancias de Guarnición de las Fuerzas Armadas y las Autoridades de Carabineros de Chile. La Autoridad Fiscalizadora le corresponde, entre otras funciones, Autorizar la renovación de las Inscripciones de las instalaciones destinadas a fabricar, reparar, probar y almacenar armas, explosivos, artificios pirotécnicos, y elementos sometidos a control, como también a los comerciantes, importadores, exportadores y consumidores habituales de dichos elementos, informando a la Dirección General, Tramitar toda la documentación de aquellas actuaciones que requieran resolución de la Dirección General, Autorizar la venta y consumo de explosivos, productos químicos y artificios pirotécnicos controlados por la Ley y a otorgar licencias para Programadores Calculistas, Manipuladores de Explosivos, Productos Químicos y Artificios Pirotécnicos.

Instalación de fábricas de explosivos y productos químicos sujetos a control

De acuerdo al Reglamento Complementario, Artículo 18, toda persona natural o jurídica que desee instalar fábricas, plantas o armaduría de armas, explosivos, artificios pirotécnicos y cualquier otro elemento sujeto a control, además de las exigencias legales, reglamentarias y municipales deberá obtener un permiso de la Dirección General, por medio de una solicitud a la que se acompañarán los siguientes antecedentes:

Tabla 53 Antecedentes (preliminares) para la instalación de fábrica de productos químicos sujetos a control de la DGMN

ANTECEDENTES PARA ANTEPROYECTO DE INSTALACIÓN DE FABRICA DE EXPLOSIVOS Y PRODUCTOS QUÍMICOS SUJETOS A CONTROL	
A	Individualización del solicitante y constitución legal de la persona jurídica y de su representante legal.
B	Anteproyecto de la fábrica, planta o armaduría incluyendo planos de arquitectura de aspectos generales.
C	Un detalle de los productos a elaborar y producción anual estimativa.
D	Carta geográfica con ubicación y delimitación del lugar del terreno donde se instalará la industria.
E	Detalles de seguridad referidas a la o las instalaciones y productos.

F	Copia de la autorización municipal y de los organismos públicos que tengan competencias en materias a que se refiere el artículo 26 del presente reglamento.
---	--

La solicitud será presentada ante la Autoridad Fiscalizadora que corresponda a la jurisdicción donde se proyecta ubicar las instalaciones. La Autoridad Fiscalizadora deberá inspeccionar y comprobar en terreno lo expuesto en la solicitud, debiendo acompañar a estos documentos, un informe Técnico del Banco de Pruebas de Chile. Con esta información esta Autoridad emitirá una opinión fundada sobre la factibilidad o no, de autorizar la instalación de la fábrica o armaduría remitiendo los antecedentes a la Dirección. La Dirección General deberá pronunciarse respecto a los antecedentes aportados dentro del plazo de 30 días, pudiendo solicitar otros documentos, inspeccionar en terreno o solicitar informes técnicos de otros organismos especializados. Una vez aprobado el anteproyecto, la DGMN informará al interesado para que presente el proyecto definitivo, que incluye:

Tabla 54 Antecedentes para proyecto definitivo de fábrica de productos químicos controlados por DGMN

ANTECEDENTES PARA EL PROYECTO DEFINITIVO	
A	Autorización Municipal estableciendo que el terreno es apto para la instalación de la fábrica y que no está afecto a expropiaciones programadas.
B	Planos de Arquitectura con indicaciones del nombre y uso de cada dependencia, instalaciones de electricidad, gas, agua y alcantarillado debidamente legalizados.
C	Nómina de los productos a fabricar con su nombre de fantasía.
D	Reglamento interno, conteniendo detalles de seguridad en la manipulación de los productos utilizados, servicio de seguridad y protección, sistemas de alarma y de comunicaciones de la instalación.
E	Relación del personal que se desempeñará como manipuladores, cuando se trate de explosivos, Artificios Pirotécnicos y Productos Químicos.
F	Certificado del Cuerpo de Bomberos, indicando expresamente que la industria cuenta con los elementos necesarios para combatir un principio de incendio como también que no hay peligro hacia edificaciones vecinas por la cantidad y tipo de elementos a utilizar.
H	La Dirección General, una vez aprobado el proyecto, autorizará la instalación de la industria mediante una resolución fundada

Permisos para la fabricación

Aprobada la instalación de la fábrica o armaduría, e inscrito en el registro correspondiente, se solicitará a la Dirección General, la autorización para fabricar o armar los elementos sujetos a control. Esta autorización será otorgada, previa aprobación técnica de calidad, otorgada por el Banco de Pruebas de Chile, mediante la emisión de un Informe Técnico.

Tabla 55 Antecedentes a presentar en el permiso de fabricación de productos químicos controlados por DGMN

A	Número de resolución que autorizó la instalación de la industria e inscripción anual vigente.
B	Nombre de los artículos que se fabricarán o armarán y procesos de fabricación, incluyendo las especificaciones técnicas y programa mensual y anual de producción previsto.
C	Medidas de seguridad para el empleo y manipulación de estos elementos.
D	Muestras o prototipos de los elementos que se fabricarán o armarán, incluyendo los envases con rotulación

La Autoridad Fiscalizadora, remitirá las muestras, prototipos y documentación al Banco de Pruebas de Chile u otro organismo designado por la Dirección General, para el informe de calidad. Aprobado el informe técnico, la Dirección General emite, dentro del plazo de 15 días, la resolución que autoriza la producción de los elementos especificados.

Inscripción como importador, exportador, comerciante o consumidor habitual

Para ejercer sus actividades específicas los comerciantes, importadores, exportadores, consumidores habituales, armadores, transformadores y reparadores de elementos sujetos a control, deberán requerir previamente su inscripción ante la Autoridad Fiscalizadora, adjuntando los siguientes documentos:

Tabla 56 Antecedentes requeridos para la inscripción como importador, exportador, comerciante o consumidor habitual de productos químicos controlados por la DGMN

A	Individualización del solicitante, constitución legal de la persona jurídica y su representante legal.
B	Solicitud del representante legal de la empresa o persona natural en que establezca los rubros que desea inscribir y cantidades a almacenar.
C	Certificado de antecedentes para fines especiales del representante legal y de los socios tratándose de una sociedad de responsabilidad limitada, y del directorio si fuese una sociedad anónima.
D	Antecedentes del lugar de almacenamiento, incluyendo una descripción detallada y croquis a escala del lugar.
E	Fotocopia legalizada de la Patente Municipal al día, o patente minera en el caso de consumidores habituales de explosivos.
F	Fotocopia del RUT de la empresa.
G	Para el caso de comerciantes en municiones, pólvora, productos químicos y Artificios Pirotécnicos, se debe acompañar un Certificado del Cuerpo de Bomberos del lugar en que conste: 1) Si las instalaciones cumplen con las medidas de seguridad contra incendio. 2) Si se dispone de un servicio interno equipado con los elementos adecuados para atacar un principio de incendio. 3) Grado de peligrosidad hacia y desde los edificios vecinos, conforme al tipo de elementos y cantidades solicitadas almacenar por el interesado.

La inscripción tiene una validez de un año calendario, a contar de la fecha que fue emitida. Los interesados que soliciten la renovación anual antes del plazo de vencimiento, sólo deberán acompañar una solicitud en que se especifique los rubros que renueva, patente municipal o minera al día, según sea el caso.

Autorización de compra

Las personas naturales o jurídicas, deben solicitar a la Autoridad Fiscalizadora, la autorización para la venta, compra, enajenación, adquisición, préstamo, prenda depósito o cualquier otra actividad, otorgando ésta, una "Autorización de Compra" que caducará dentro del plazo de 10 días corridos, a contar de la fecha de su recepción por el interesado. La solicitud de autorización de compra e inscripción concedida, tanto a comerciantes como a personas naturales o jurídicas servirá por una sola vez, en los términos consignados.

Permisos para comercio exterior

Toda persona natural o jurídica que desee importar, internar o exportar elementos sujetos a control, deberá solicitar directamente autorización a la Dirección General o a través de las

Autoridades Fiscalizadoras. Estos permisos distinguen entre importación para consumo propio como para comercio.

En la internación al país de explosivos, fuegos artificiales, artículos pirotécnicos, productos químicos u otros similares sujetos a control, se deberá observar las siguientes normas:

1.- El importador deberá tener la Resolución de internar en su poder, al momento de la llegada de los productos, solicitando un trámite anticipado o internar en una bodega autorizada por la Dirección General.

2.- La Resolución para Internar servirá como Guía de Libre Tránsito entre la Aduana y lugar de almacenamiento.

3.- El importador solicitará al Agente de Aduanas que el control o Aforo Físico de esa mercadería se efectúe en el lugar de almacenamiento de destino.

4.- El importador deberá informar a la Autoridad Fiscalizadora del lugar de destino, la fecha de llegada de los elementos sujetos a control, con el objeto que concurra un fiscalizador para constatar los sellos, embalaje y verificación que la mercadería recibida corresponda a lo autorizado internar.

5.- En caso de sustracción, deterioro o siniestro del total o parte de la mercadería, producido durante la travesía desde el extranjero o traslado desde la aduana, el importador de los elementos, presentará a la Autoridad Fiscalizadora correspondiente, los Certificados de Averías e informes de aduana o documento de la compañía de seguros certificando lo anterior, a fin de actualizar las existencias.

6.- Este producto no se podrá usar ni comercializar mientras no se cuente con la aprobación del BPCH., para lo cual el importador deberá coordinar previamente con este organismo, la fecha de entrega de los artículos, para su análisis.

7.- En caso que algún elemento controlado no cumpla con los requisitos exigidos, el BPCH. comunicará de inmediato a la Dirección General debiendo el propietario exportarlos o destruirlos en el plazo de sesenta días a contar de la fecha que es notificado, permaneciendo almacenado durante ese tiempo en el lugar que le sea fijado.

8.- El propietario de los elementos importados, solicitará a la Autoridad Fiscalizadora del lugar de almacenamiento, la destrucción de los elementos que hayan sufrido daño o deterioro que los inutilice. De esta actuación se debe levantar un acta remitiendo una copia a la Dirección General. Para el caso de productos químicos, se deberá solicitar su destrucción a los organismos especializados.

Inscripción como consumidor de explosivos y productos químicos

Las personas naturales o jurídicas que por la naturaleza de sus actividades deban utilizar explosivos y/o productos químicos, para los efectos de este reglamento, serán consideradas "Consumidores de Explosivos o productos químicos", quienes deberán presentar la documentación para solicitar su inscripción ante la Autoridad Fiscalizadora del lugar en que se encuentren ubicadas las faenas. Esta autoridad enviará los antecedentes a la Dirección General quien autorizará mediante una Resolución su inscripción.

En función de la naturaleza y duración de las faenas, los consumidores de explosivos se clasifican en:

- Consumidores ocasionales,
- Consumidores habituales.

Inscripción de manipuladores de explosivos, productos químicos o artificios pirotécnicos

Las personas que manipulen explosivos, Productos Químicos o Artificios Pirotécnicos cualquiera sea su naturaleza, deberá contar con una licencia otorgada por la Autoridad Fiscalizadora.

Manipuladores de Explosivos

Esta licencia tendrá una vigencia de dos años contados desde la fecha en que fue otorgada y será válida para todo el territorio nacional. Para otorgar esta licencia las Autoridades Fiscalizadoras exigirán al solicitante un certificado del experto en Prevención de Riesgos de la empresa para la cual trabaja, acreditando que el solicitante posee los conocimientos técnicos necesarios para desempeñarse como Manipulador de Explosivos.

Manipulador de Productos Químicos o de Artificios Pirotécnicos

Esta licencia tendrá una vigencia de dos años contados desde la fecha que fue otorgada y será válida para todo el territorio nacional. Para otorgar esta licencia las Autoridades Fiscalizadoras exigirán al solicitante un certificado del experto en Prevención de Riesgos o de Seguridad Industrial de la empresa para la cual trabaja, acreditando que el solicitante posee los conocimientos técnicos necesarios para desempeñarse como Manipulador de Productos Químicos, o de Artificios Pirotécnicos según sea el caso. En caso de no existir los cargos anteriores, será el representante legal de la empresa para la cual trabaja, quien certifique los conocimientos técnicos de su trabajador.

Del inventario y comercialización

De acuerdo al Reglamento Complementario de la Ley 17798, dispone que la fábrica (o similar) donde se realiza la producción de elementos autorizados deberá informar del material producido, vendido, consumido y/o rechazado dentro de los cinco primeros días del mes siguiente a la Autoridad Fiscalizadora. De la misma forma, deberá remitir este informe a las sucursales del Instituto de Investigaciones y Control del Ejército.

De los registros de explosivos y productos químicos controlados

Corresponde a la DGMN llevar los siguientes registros, entre otros:

- Consumidores habituales de munición, explosivos y productos químicos.
- Importadores, exportadores y comerciantes de elementos sujetos a control.
- Instalaciones para almacenar armas, municiones, explosivos, artificios pirotécnicos y productos químicos.
- Fabricantes de productos sometidos a control.

7.2.4 DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA DE INFORMACIÓN DE RESIDUOS PELIGROSOS

El Decreto 148 del MINSAL establece las condiciones sanitarias y de seguridad mínimas a que deberá someterse la generación, tenencia, almacenamiento, transporte, tratamiento, reúso, reciclaje, disposición final y otras formas de eliminación de los residuos peligrosos.

Los residuos peligrosos deben identificarse y etiquetarse de acuerdo a la clasificación y tipo de riesgo que establece la Norma Chilena Oficial NCh 2.190 of.93. Esta obligación será exigible desde que tales residuos se generen y hasta su eliminación.

El D.S. 148 además define 123 sustancias químicas en un listado citado en el artículo 88, clasificadas como sustancias tóxicas agudas y 3123 citadas en el artículo 89, clasificadas como sustancias tóxicas crónicas.

Corresponderá a la Autoridad Sanitaria fiscalizar y controlar el cumplimiento de las disposiciones del D.S 148 y del Código Sanitario en relación a residuos peligrosos.

En el artículo 80 y 83 de su Título VII del reglamento, se define al Sistema de Declaración y Seguimiento de los Residuos Peligrosos, se señala que los poseedores de residuos peligrosos quedan sujetos a un Sistema de Declaración y Seguimiento de tales residuos, válido para todo el país, que tiene por objeto permitir a la Autoridad Sanitaria disponer de información completa, actual y oportuna sobre la tenencia de tales residuos, desde el momento que salen del establecimiento de generación, hasta su recepción en una instalación de eliminación. Para el manejo de esta información, MINSAL, con asistencia de CONAMA (antecesora del Ministerio), desarrolló el sistema Web de Declaración y Seguimiento de Residuos Peligrosos (SIDREP).

SISTEMA DE DECLARACIÓN Y SEGUIMIENTO DE RESIDUOS PELIGROSOS (SIDREP)	
Plataforma electrónica	http://sidrep.minsal.gov.cl/sidrepVU/index.php
Transporte de Residuos Peligrosos	El artículo 84 del D. 148 del MINSAL, señala que se deberá declarar el transporte de residuos peligrosos superiores a 6 Kg de residuo tóxico agudos y a 2 toneladas de residuo peligrosos que presenten cualquier otra característica de peligrosidad.
¿Quiénes están obligados de declarar?	Los Usuarios sujetos a declarar sus residuos peligrosos a través del SIDREP son : 1) Generador. 2) Transportista. 3) Destinatario. 4) Autoridad Sanitaria o Ministerio de Salud.
¿Dónde se deben declarar los Residuos Peligrosos?	Bajo la Resolución Exenta No 1139 del MMA se pone marcha el funcionamiento del Sistema de Ventanilla Única del RETC, que indica reglas básicas para el mejor funcionamiento del Registro y en especial para los trámites de ingreso al sistema por parte de los establecimientos generadores y destinatarios.

Registros de Emisiones y Transferencias de Contaminantes (RETC)

A partir de la Conferencia de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente y el Desarrollo (CNUMAD) de 1992 y la adopción de la Agenda 21, comenzó el interés entre la comunidad internacional y nacional, por la creación de los **Registros de Emisiones y Transferencias de Contaminantes (RETC)**,

como una herramienta fundamental para la gestión ambiental de cada nación y la adopción de decisiones en el ejercicio de la función pública en materia ambiental, interés que ha sido manifestado en varios acuerdos y convenios internacionales, destacando la importancia de que los gobiernos respeten el derecho de sus ciudadanos a tener acceso a esta información e implementen programas de difusión pública de emisiones y transferencias de contaminantes. De esta forma, en la actualidad existe una amplia experiencia internacional en torno al tema, con programas RETC implementados en la mayoría de los países pertenecientes a la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), como: Toxic Release Inventory (TRI) de los Estados Unidos, National Pollutant Release Inventory (NPRI) de Canadá, National Pollutant Inventory (NPI) de Australia, RETC de México, entre otras.

En forma paralela, el Instituto de las Naciones Unidas para la Formación Profesional e Investigación (UNITAR), en cooperación con la OCDE, la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) y la Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONUDI), han concentrado esfuerzos para que los países en vías de desarrollo introduzcan los RETC como una herramienta efectiva en su gestión ambiental.

El Ministerio del Medio Ambiente y su antecesora, la Comisión Nacional del Medio Ambiente, Conama, junto a representantes del sector público, privado, académico y organizaciones no gubernamentales, han trabajado desde el año 2002, en el diseño de un **RETC**. En este contexto, se han acogido las recomendaciones de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) y los compromisos adquiridos por Chile en el ámbito internacional a través de la suscripción y aprobación de los acuerdos. En especial, y sin que sean excluyentes de otros acuerdos internacionales, se destacan el Tratado de Libre Comercio con Estados Unidos, el Memorándum de acuerdo con Canadá en el marco del Tratado de Libre Comercio, y el Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs).

Con el fin de facilitar el acceso igualitario, oportuno y expedito de los ciudadanos y de las distintas instituciones a la información disponible de emisiones, **residuos** y transferencia de contaminantes, es necesario contar con un sistema de registro de información de las emisiones y transferencias de contaminantes. El crecimiento de la actividad económica de nuestro país ha incrementado la generación de residuos peligrosos, con las consiguientes consecuencias ambientales y sanitarias que ello implica. Es fundamental poder contar con información relativa a la cantidad de residuos peligrosos generados que contribuirá al diseño de políticas públicas y a implementar medidas tendientes a lograr un mejor manejo y control de los mismos.

Tabla 57 Particularidades del Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes (RETC)

REGISTRO DE EMISIONES Y TRANSFERENCIAS DE CONTAMINANTES (RETC)	
Función	Base de datos accesible al público, destinada a capturar, recopilar, sistematizar, conservar, analizar y difundir la información sobre emisiones, residuos y transferencias de contaminantes potencialmente dañinos para la salud y el medio ambiente que son emitidos al entorno, generados en actividades industriales o no industriales o transferidos para su valorización o eliminación.
Obligación	Obliga a georreferenciar a los establecimientos, entendiéndose por establecimiento en el que se lleve a cabo una o varias actividades económicas donde se produce una transformación de la materia prima o materiales empleados, o que no producen una transformación en su esencia pero dan origen a nuevos productos, y que en este proceso originan emisiones, residuos y/o transferencias de contaminantes; así

	como cualesquiera otras actividades directamente relacionadas con aquéllas que guarden una relación de índole técnica con las actividades llevadas a cabo en el mismo emplazamiento y puedan tener repercusiones sobre generación de emisiones, residuos y/o transferencias de contaminantes.
Normativa que lo regula	Es regulado por el D.S. NO1/2013 del MMA, el cual contempla la declaración o estimación de residuos. Este sistema de registro incluye sistema de inventario declarado en toneladas/anuales. Asimismo, registrará la naturaleza, volumen y destino de los residuos sólidos generados por los establecimientos.
Objetivos	A. Facilitar el acceso a la información sobre emisiones, residuos y transferencias de contaminantes B. Promover el conocimiento de la información, por parte de la ciudadanía. C. Constituir una herramienta de apoyo para la adopción de políticas públicas y de regulación. D. Constituir una herramienta que favorezca la toma de decisiones en el diseño de la política de gestión ambiental encaminada a reducir la contaminación, y avanzar hacia un desarrollo sustentable. E. Facilitar a los sujetos regulados la entrega de la información sobre las emisiones, residuos y transferencias de contaminantes. F. Propender a generar una gestión ambiental más adecuada de las emisiones, residuos y transferencias de contaminantes por parte de la industria y municipalidades.
Plataforma electrónica	El RETC mantendrá acceso público a los informes consolidados de los registros de residuos de años anteriores, el que será electrónico, directo y gratuito a través del portal electrónico del RETC. Sitio web: www.retc.cl .

En una primera instancia, los Residuos Peligrosos se registraban en el **Sistema de Declaración y Seguimiento de Residuos Peligrosos SIDREP** del MINSAL, que se creó para dar cumplimiento al D. S. No 148/2003.

De acuerdo al D.S. No1/2013 del MMA del Registro de Emisión y Contaminantes, RETC, los solicitantes deben realizar su solicitud de registro a través de **Ventanilla Única**.

El sistema de Ventanilla Única del RETC, fue publicado el 4 de marzo del 2014 dando cumplimiento al DS No 1/2013 y la Resolución Exenta 1.139 ambos del MMA. Durante el mes de marzo del 2014 se registraron alrededor de 250 establecimientos en el sistema. El 02 de mayo del 2014, el Sistema de Declaración y Seguidimientos de Residuos Peligrosos SIDREP (D.S. No 148/2003 del MINSAL) es integrado con el sistema Ventanilla Única.

Por su parte los Generadores de Residuos Peligrosos que voluntariamente decidan declarar sus residuos peligrosos a través de SIDREP del MINSAL, dado que generan menos de 12 kg anuales de residuos tóxicos agudos o menos de 12 toneladas anuales de residuos peligrosos que presenten otra característica de peligrosidad, podrán solicitar su ingreso a SIDREP a través de la ficha que se adjunta en el anexo del documento que se encuentra disponibles en:

http://sidrep.minsal.gov.cl/sidrepVU/solicitud_voluntarios/formulario.php

El artículo 7 de la R.E. NO 1.139/2014, señala los plazo para reportar en el Sistema de Ventanilla Única del RETC (<http://vu.mma.gob.cl>)

D.S. NO 148/2003 MINSAL: A partir del 2 de mayo del 2014

D.S. NO1/2013 MMA art.27 (Municipios): A partir del 02 de enero del 2015

D.S. NO1/2013 MMA art. 26 y 28 (Generador y destinatario): A partir del 02 de enero del 2015

El artículo 8 de la R.E. No 1.139/2014, señala que la fecha de desactivación del acceso al sistema de declaración SIDREP del Minsal y la puesta en marcha del Sistema de Ventanilla Única corresponde al 2 de mayo del año 2014.

El Ministerio del Medio es el administrador del RETC, quien podrá:

- A. Realizar requerimientos de información a los órganos de la Administración del Estado, para su análisis y sistematización,
- B. Comunicar y coordinar las solicitudes de información del RETC con otros órganos de la Administración del Estado.
- C. Informar, promover y difundir el contenido del RETC.
- D. Estudiar y proponer normas, instrumentos y medidas que permitan fortalecer y promover el RETC.
- E. Administrar el portal electrónico del RETC, como asimismo realizar las labores de enlace de éste con otros órganos del Estado,
- F. Elaborar y mantener el formulario único del Sistema de Ventanilla Única del RETC, el cual funcionará a través de su portal electrónico,
- G. Examinar periódicamente su normativa técnica de carácter informático, de carácter ambiental y estándares de interoperabilidad de la información.
- H. Elaborar y desarrollar los proyectos necesarios para la permanente modernización del RETC,
- I. Dictar los actos administrativos que estime pertinentes para el cumplimiento del presente reglamento.
- J. Proporcionar capacitación y asistencia a los órganos de la Administración del Estado que participen del RETC.
- K. Mantener a disposición de los órganos de la Administración del Estado la información contenida en el RETC.
- L. Velar por el cumplimiento de los acuerdos internacionales que digan relación con el RETC de los que Chile sea parte, sin perjuicio de las facultades del Ministerio de Relaciones Exteriores,
- M. Elaborar anualmente un informe consolidado de las emisiones, residuos y/o transferencias de contaminantes, en base a la información recopilada de todo el país,
- N. Convocar y presidir las reuniones del Grupo Nacional Coordinador (GNC).

Componentes esenciales del Registro:

- A. Desglose por establecimiento de la información que corresponda a fuentes puntuales, incluyendo cada unidad de emisión y descarga.
- B. Disponer un modo de reporte de información respecto de fuentes difusas.
- C. Disponer de un desglose de la información por contaminantes, sustancias o **residuos**, según proceda.
- D. Abarcar todos los componentes ambientales, distinguiendo entre las emisiones a la atmósfera, el suelo o el agua.
- E. Incluir información sobre las emisiones, generación de **residuos** y/o transferencias de contaminantes de los establecimientos.

- F. Incluir información de producción de los establecimientos que permita generar indicadores de desempeño ambiental, esta información se mantendrá innominada a menos que los sujetos obligados a reportar autoricen su publicación.
- G. Incluir información de inversión, costos de operación y mantención, eficiencia de captura y fijación de sistema de control de emisiones, **residuos** y transferencias de contaminantes, como asimismo información de inversión, operación y mantención de los sistemas de monitoreo de las emisiones, **residuos y** transferencias de contaminantes. Esta información se mantendrá innominada a menos que los sujetos obligados a reportar autoricen su publicación.
- H. La información contenida en el RETC tendrá el carácter de pública y estará a disposición de los usuarios en el portal electrónico respectivo y en ejemplares impresos disponibles para su consulta en las Secretarías Regionales Ministeriales del Medio Ambiente, una vez que haya sido enviada por los órganos de la Administración del Estado competentes para su fiscalización.

Documentos solicitados para realizar el registro, en el portal del Sistema Ventanilla Única del RETC.

De acuerdo a lo indicado por la Res. Ex. No 1.139/MMA, para realizar la solicitud se necesitan tres documentos:

- 1.- Autorización Notarial del Titular de la empresa indicando la designación del Encargado de Establecimiento.
- 2.- Solicitud de Establecimiento efectuada en el portal del Sistema de Ventanilla Única, firmada por el encargado de Establecimiento.
- 3.- Cédula de Identidad por ambos lados y a color del Encargado de Establecimiento.

Es obligatorio adjuntar estos documentos en el portal y enviar por correo los originales a la Oficina de Partes del Ministerio del Medio Ambiente o a las respectivas SEREMIS del Medio Ambiente.

Detalle de los documentos que debe adjuntar en el sistema (sección confirmación de solicitud) y enviar físicamente al MMA (Dirección San Martín NO73 Santiago, Región Metropolitana o las respectivas SEREMIS del Medio Ambiente):

- A. Documento Designación (Oficio)
- B. Documento Solicitud (Solicitud de Establecimiento que efectúa el Encargado de Establecimiento en el sistema VÚ)
- C. Copia a color por ambos lados de la Cédula de Identidad del Encargado de Establecimiento

El correo físico, se debe dirigir al Jefe del Departamento de Estadísticas e Información Ambiental, a la dirección San Martín NO73, Santiago, Región Metropolitana o a las respectivas SEREMIS del Medio Ambiente.

Responsabilidades del encargado de establecimiento que solicita el registro:

1. Completar la información solicitada en el formulario de solicitud y georeferenciar correctamente al establecimiento, para obtener el código identificador del establecimiento y la contraseña del Sistema Ventanilla Única del RETC.
2. Designar a los delegados para cada sistema sectorial integrado al Sistema Ventanilla Única del RETC, donde reporte o declare información el establecimiento.
3. Actualizar la información asociada a la asignación de Resoluciones de Calificación Ambiental que correspondan a su establecimiento.
4. Completar los formularios de Producción y de Inversión, Costos de Monitoreo y Control.
5. Suscribir electrónicamente, a través del Sistema Ventanilla Única del RETC, una declaración jurada dando fe de la veracidad de la información ingresada y que no existen omisiones al respecto. Lo anterior se debe realizar entre el 1° de septiembre y el 15 de octubre de cada año.

8. RECOPIACIÓN DE INFORMACIÓN DISPONIBLE RELATIVA A SQAV EN CHILE

Para la recopilación de información disponible relativa a sustancias químicas de alto volumen de producción del país, ya sea importadas o producidas, se consultaron los sistemas de información del Ministerio de Salud, Ministerio de Defensa y Ministerio del Interior, mediante solicitud de transparencia, y se consultó a la Asociación de Industriales Químicos A.G. (ASIQUM) y a la Comisión Chilena del Cobre (COCHILCO).

En el caso de las sustancias importadas, se solicitaron las estadísticas de importación del año 2014 de acuerdo a los registros en la plataforma “Autoridad Sanitaria Digital” del Ministerio de Salud de las solicitudes aprobados para uso y disposición de sustancias peligrosas, los registros de la Dirección General de Movilización Nacional y los registros del Ministerio del Interior. Adicionalmente, se incluyó información disponible por ASIQUM. De acuerdo a esta información, las sustancias químicas importadas en un volumen igual a superior a 1000 toneladas/año se presentan en la siguiente Tabla 58. A notar, los nombres y números CAS se presentan tal cual han sido informados por las instituciones.

Tabla 58 Sustancias Químicas de Alto Volumen de Importación

NOMBRE SUSTANCIA	NUMERO CAS
1,1-DIFLUOROETANO o FREON 152A	75-37-6
2-BUTOXYETANOL	111-76-2
2-ETILHEXANOL	104-76-7
4,4 -DIISOCIANATO DE DIFENILMETANO	101-68-8
4-METIL-2-PENTANOL	108-11-2
ACETATO DE ETILO	141-78-6
ACETONA	67-64-1
ACIDO ACRILICO	79-10-7
ACIDO CLORHIDRICO	7647-01-0
ACIDO FLUORHIDRICO	7664-39-3
ACIDO PERCLORICO	7601-90-3
ACIDO SULFURICO	7664-93-9
ACRILATO DE BUTILO	141-32-2
CLORURO DE ALUMINIO	7446-70-0
ACETATO DE VINILO	108-05-4
ALUMINIO (POLVO)	No informado
HIDROXIDO DE AMONIO	1336-21-6
AMONIACO	7664-41-7
AZIDA SODICA	26628-22-8
AZUFRE	7704-34-9
BISFENOL A	80-05-7
BROMURO DE METILO	74-83-9
BUTANO y MEZCLAS DE BUTANO	106-97-8

BUTANOL	71-36-3
4-METIL-2-PENTANOL	108-11-2
CIANURO DE METILO	75-05-8
CLORATO POTASICO	3811-04-9
CLORATO SODICO	7775-09-9
CLORODIFLUOROMETANO	75-45-6
CLOROFORMO	67-66-3
CLORURO DE ZINC	7646-85-7
DESTILADOS DE PETROLEO n,e,p,	8002-05-9
DICLOROPROPENOS	542-75-6
DIETILEN GLICOL BUTIL ETER	112-34-5
DIETILEN GLICOL BUTIL ETER ACETATO (DGBA)	124-17-4
DIETILENTRIAMINA	111-40-0
DIISOCIANATO DE TOLUENO	584-84-9
DIOXIDO DE CARBONO	124-38-9
ESTIRENO MONOMERO	100-42-5
ETANOL	64-17-5
ETANOLAMINA	141-43-5
ETER MONOBUTILICO DEL ETILENGLICOL	111-76-2
ETILMETILCETONA o METILETILCETONA	78-93-3
FENOL	108-95-2
FERROSILICIO	8049-17-0
FOSFORO AMARILLO	No informado
METANOL	67-56-1
HELIO COMPRIMIDO y HELIO LIQUIDO REFRIGERADO	7440-59-7
HEPTANO	142-82-5
HEXAMINA o HEXAMETIL ENOTETRAMINA	100-97-0
HEXANO	110-54-3
HIDROQUINONA	123-31-9
HIDROXIDO POTASICO	1310-58-3
HIDROXIDO SODICO	1310-73-2
HIPOCLORITO EN SOLUCION	14380-61-1
ISOBUTANO e ISOBUTANO EN MEZCLA	75-28-5
ISOPROPANOL o ALCOHOL ISOPROPILICO	67-63-0
METIL - TERC - BUTILETER	1634-04-4
METIL ISOBUTIL CETONA	108-10-1
METILACETONA	78-93-3
2-ETILHEXANOL	104-76-7
NITRATO AMONICO	6484-52-2
NITRATO MAGNESICO	10377-60-3
NITRATO SODICO	7631-99-4
NITROGENO COMPRIMIDO	7727-37-9
NITROMETANO	75-52-5
ORTO -XILENO (1,2 DIMETILBENCENO)	95-47-6
OXIDO CALCICO	1305-78-8
OXIDO CUPROSO	1317-39-1

OXIDO DE ETILENO	75-21-8
OXIDO NITROSO COMPRIMIDO	10024-97-2
PENTAFLUOROETANO O 1,1,1,2,2-PENTAFLUOROETANO	354-33-6
PERSULFATO AMONICO	7727-54-0
PERSULFATO SODICO	7775-27-1
PROPANO	74-98-6
PROPANOL	71-23-8
PROPILENO	115-07-1
SULFATO DE COBRE	7758-98-1
SULFHIDRATO SODICO	16721-80-5
TETRAHIDROFURANO	109-99-9
TOLUENO	108-88-3
TRICLOROETILENO	79-01-6
TRIOXIDO DE CROMO	1333-82-0
DIMETIL CARBONATO	4525-33-1
XILENO	1330-20-7

Es necesario indicar que este listado de sustancia ha sido generado, en gran parte, tomando como base las autorizaciones de uso y disposición de aquellas sustancias de la Resolución 714. Este listado tiene bajo su alcance la sustancia como tal y las mezclas que la contengan, sin indicación específica de porcentaje o mínimo. Por esta razón, el listado compilado puede incluir sustancias calculadas en exceso toda vez que cuando se puedan presentar como ingrediente en una mezcla, la plataforma no indica su concentración.

En cuanto a la producción local de sustancias químicas de alto volumen, se consultó el anuario de estadísticas del cobre y otros minerales 1995-2014 de COCHILCO y posterior validación, a la Asociación de Industriales Químicos tomando como base la información del perfil químico nacional y lo publicado por sus empresas asociadas. Adicionalmente, se incorporó la información entregada por el Ministerio de Defensa y el Ministerio del Interior. Las sustancias químicas producidas en un volumen igual a superior a 1000 toneladas/año se presentan en la Tabla 59.

Tabla 59 Sustancias Químicas de Alto Volumen de Producción

NOMBRE SUSTANCIA	NUMERO CAS
ACIDO BÓRICO	10043-35-3
ACIDO CLORHIDRICO	7647-01-0
ACIDO NÍTRICO	7697-37-2
ACIDO SULFÚRICO	7664-93-9
ACIDO TARTARICO	87-69-4
ALUMINIO (POLVO)	No informado
ANHIDRIDO FTÁLICO	85-44-9
APATITAS	64476-38-6
ARENA SILICEA	308075-07-2
BENTONITA	1302-78-9
BORATOS	14213-97-9/11129-12-7

BÓRAX	1303-96-4
BUTANO	106-97-8
CALIZA	1317-65-3
CAOLIN	1332-58-7
CARBÓN	125612-26-2
CARBONATO DE CALCIO	471-34-1
CARBONATO DE LITIO	554-13-2
CARBONATO DE POTASIO	584-08-7
CLORATO DE SODIO	7775-09-9
CLORO	7782-50-5
CLORURO DE CALCIO	10043-52-4
CLORURO DE LITIO	7447-41-8
CLORURO DE POTASIO	7447-40-7
CLORURO DE SODIO	7647-14-5
CLORURO FERRICO	7705-08-0
COBRE	7440-50-8
CUARZO	14808-60-7
DIATOMITA	61790-53-2
DIESEL	Varios
DOLOMITA	16389-88-1
FELDESPATO	68476-25-5
FERROMOLIBDENO	11121-95-2
FORMALDEHIDO	50-00-0
FOSFORITA	70514-14-6
GAS NATURAL	8006-14-2
GASOLINAS	Varios
HIDROXIDO DE LITIO	1310-65-2
HIDROXIDO DE MOLIBDENO	126853-99-4
HIDROXIDO DE SODIO	1310-73-2
HIERRO	7439-89-6
HIPOCLORITO DE SODIO	7681-52-9
KEROSENO	Varios
MANGANESO	7439-96-5
METANOL	67-56-1
METASILICATO DE SODIO	6834-92-0
MOLIBDENO (DERIVADOS)	7439-98-7
NITRATO DE AMONIO	6484-52-2
NITRATO DE POTASIO	7757-79-1
NITRATO DE SODIO	7631-99-4
ORO	7440-57-5
OXIDOS DE MOLIBDENO	18868-43-4/11098-99-0/1313-27-5

PEPTONA	73049-73-7
PERLITA	130885-09-5
PERRENATO DE AMONIO	13598-65-7
PETROLEO CRUDO	8002-05-9
PIROFILITA	12269-78-2
PLATA	7440-22-4
PLOMO	7439-92-1
POLIPROPILENO	9003-07-0/25085-53-4/26063-22-9
PROPANO	74-98-6
PROPILENO	115-07-1
PUMICITA	1332-09-8
SULFATO DE COBRE	7664-93-9
SULFATO DE POTASIO	7778-80-5
SULFATO DE SODIO	7757-82-6
ULEXITA	1319-33-1
WOLLASTONITA	13983-17-0
YESO	13397-24-5
YODATO DE CALCIO	7789-80-2
YODATO DE POTASIO	7758-05-6
YODATO DE SODIO	7681-55-2
YODO	7553-56-2
YODURO DE POTASIO	7681-11-0
YODURO DE SODIO	7681-82-5
ZINC	7440-66-6

De acuerdo a la información recopilada relativa a sustancias químicas de alto volumen de producción, es importante destacar aquellas en las que Chile es un actor relevante a nivel internacional dada sus reservas naturales y/o participación a nivel de mercado mundial. De estas sustancias, aquellas no incluidas en el programa HPV/CoCAP a la fecha de emisión del informe y que Chile podría seleccionar para investigar en una primera etapa se incluyen en la Tabla 60.

Tabla 60 SQAIV de producción relevantes en el contexto internacional

NOMBRE SUSTANCIA	NUMERO CAS
CARBONATO DE LITIO	554-13-2
CLORURO DE LITIO	7447-41-8
CLORURO DE SODIO	7647-14-5
HIDROXIDO DE LITIO	1310-65-2
YODATO DE CALCIO	7789-80-2
YODATO DE POTASIO	06-05-7758
YODATO DE SODIO	7681-55-2

YODO	7553-56-2
YODURO DE POTASIO	7681-11-0
YODURO DE SODIO	7681-82-5

9. PROPUESTA DE MECANISMO PARA LA INVESTIGACIÓN COOPERATIVA DE SQAV

Tal como se indica anteriormente, actualmente, nuestro país no dispone de un sistema que permita recopilar sistemáticamente estadísticas de producción e importación de todas las sustancias químicas disponibles en el mercado chileno, por lo tanto, un mecanismo de investigación cooperativa debe incluir un sistema que permita recopilar sistemáticamente esta información y además proveer información base de exposición de la población y el medio ambiente.

Dado lo anterior, se propone una estrategia en dos etapas:

- Establecer un mecanismo de investigación colaborativo, voluntario, público-privado para el análisis de una sustancia química de alto volumen producida en el país y que no esté cubierta actualmente por el programa CoCAP.
- Implementar un sistema de reporte de sustancias que permita recopilar sistemáticamente SQAV producidos e importados junto a información de exposición. En base a esta información, aplicar reglas objetivas para su selección y establecer un programa formal, no voluntario, para la evaluación de una o más sustancias.

9.1 Mecanismo de investigación colaborativo voluntario

Considerando que en nuestro país existe información limitada sobre las sustancias químicas disponibles en el mercado y sus aplicaciones, se propone, en una etapa inicial establecer un mecanismo de investigación colaborativo similar al implementado en los Estados Unidos a través del *HPV Challenge Program*.

La selección de la sustancia química a investigar, se propone establecer de común acuerdo con la Industria en base a aquellas identificadas como SQAV de producción en Chile (Tabla 60) y actualmente no cubierta por el programa CoCAP.

Se propone que el programa incluya los siguientes hitos y responsabilidades:

- 1.- Formación de una mesa de trabajo público-privada para la selección de la sustancia química.
- 2.- Formación de un comité intersectorial a cargo de la evaluación, liderado por una entidad técnica.
- 3.- Designación de un responsable técnico por parte de la industria participante o representante de un grupo de ellas.
- 4.- Presentación de la sustancia al programa CoCAP
- 5.- Presentación de un programa de trabajo por parte de la Industria que contenga:
 - Evaluación inicial de la información disponible para cada parámetro de evaluación SIDS y no SIDS determinada como relevante por el comité intersectorial,
 - Propuestas de ensayos para completar vacíos de información.

- 6.- Aprobación/Enmienda del programa de trabajo propuesto.
- 7.- Presentación del dossier por parte de la industria o grupo de ellas.
- 8.- Revisión del dossier por parte del comité intersectorial.
- 9.- Si el dossier es aprobado, presentación del dossier *ante Cooperative Chemicals Assessment Meeting (CoCAM)* de la OCDE.
- 10.- Seguimiento de observaciones y comentarios por parte del CoCAM a través de la entidad técnica.

Se propone que el comité intersectorial se conforme de la siguiente manera:

- 1 Representante del Ministerio de Medio Ambiente
- 1 Representante del Ministerio de Salud
- 1 Representante de la Industria
- 1 Representante de la Academia
- 1 Representante de una Organización No Gubernamental

9.2 Implementación del sistema de reporte de sustancias químicas

En Estados Unidos, la TSCA establece el requerimiento de reportar las sustancias producidas e importadas sobre cierto umbral de volumen incluyendo información de exposición. El equipo consultor propone establecer un sistema de reporte de sustancias químicas, bianual y retrospectivo, inspirado en el sistema CDR de los Estados Unidos. Este sistema de reporte se apoyaría en una plataforma electrónica que tenga como objetivo recopilar la siguiente información:

- Identificar sustancias químicas mediante su denominación química y número CAS,
- Recopilar estadísticas de importación y producción,
- Usos industriales y profesionales,
- Usos por parte del público general.

Este sistema permitiría identificar aquellas sustancias químicas que se ajusten a la definición de SQAV y recopilar información base de exposición para la selección de las nuevas sustancias a investigar.

En cuanto a la selección, una vez establecida el sistema de reporte de sustancias químicas, se propone utilizar un sistema de puntaje que permita priorizar sustancias para su evaluación, articulado en la información recopilada a través del sistema de reporte.

Tabla 61 Propuesta de priorización de SQAV

PARÁMETRO	PUNTAJE
IMPORTACIÓN/PRODUCCIÓN	
SQAV identificada en base a importación en Chile	5
SQAV identificada en base a producción en Chile	10
VOLUMEN	
1000 – 10000 t/a	5
10000 – 100000 t/a	10
≥ 100000 t/a	15
USO	
Industrial	5
Profesional	10
Consumidor	15
Uso en productos destinados a niños	20

Sin perjuicio de esta propuesta, la tabla, puntaje e ítems pueden estar sujetos a revisión producto de las sustancias reportadas bajo este sistema.

El funcionamiento del programa debería considerar los hitos y responsabilidades descritas anteriormente, salvo que el programa debería ser de naturaleza no voluntaria.

10. PROPUESTA DE PLATAFORMA INFORMÁTICA QUE PERMITA LA RECOPIACIÓN Y ACTUALIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN RELATIVA A LOS PRODUCTOS QUÍMICOS DE ALTO VOLUMEN DE PRODUCCIÓN DEL PAÍS

El equipo consultor propone implementar un sistema de información para la gestión de sustancias químicas no incluidas en las normas para plaguicidas de uso agrícola, sanitario y desinfectantes. Este sistema tendría como función recopilar la siguiente información:

- Identificar sustancias químicas mediante su denominación química y número CAS,
- Recopilar estadísticas de importación y producción,
- Identificar usos industriales y profesionales,
- Identificar usos por parte del público general.

El funcionamiento de esta plataforma, permitirá obtener a lo menos los siguientes productos:

- Sistematizar la identificación y recopilación de estadísticas de sustancias químicas disponibles en el mercado chileno,
- Generar un inventario chileno de sustancias químicas,
- Identificar sustancias químicas de altos volúmenes de importación y producción,
- Identificar sustancias químicas identificadas de preocupación en el extranjero disponibles en el mercado chileno y sus aplicaciones,
- Apoyar la gestión de sustancias químicas peligrosas para la salud humana y el medio ambiente,
- Apoyar la generación de escenarios de emisión de sustancias químicas,
- Apoyar la implementación del sistema globalmente armonizado,
- Apoyar las medidas de gestión de riesgo de sustancias que pueden afectar el medio ambiente y la salud humana.

En lo administrativo, se propone incorporar esta plataforma en el Registro de Emisiones y Transferencias de Contaminantes (RETC).

El ámbito de aplicación correspondería a todas las sustancias químicas –excluidas las mezclas, no así sus componentes- con excepción de los activos de plaguicidas agrícolas, activos de plaguicidas domiciliarios y activos de desinfectantes. Se propone establecer un sistema de reporte bianual retrospectivo por parte de importadores y productores en Chile. En el ámbito legal, este sistema de reporte se puede apoyar en las atribuciones del Ministerio de Salud, Código Sanitario, Artículo 90, y las atribuciones del Ministerio de Medio Ambiente, Ley 19300, Artículo 70.

La plataforma se estructura en 3 ámbitos de información a reportar.

I. Identificación del importador y productor en Chile.

II. Identificación de la sustancia, volumen de importación y producción, forma física.

*La plataforma permitirá que la información de la sección II sea reportada por el productor de la sustancia o mezcla directamente, cuando ésta información no se encuentre disponible para el importador en Chile resguardando la protección de la información.

III. Identificación de los usos

III.a. Usos de en instalaciones industriales y profesionales, sector uso, descriptor suplementario de uso, categoría de producto, concentración, porcentaje del volumen reportado para cada uno de estos usos.

III.b. Usos por parte del público general, categoría de producto, indicación de uso destinado a productos de uso infantil, concentración máxima, porcentaje del volumen reportado para cada uno de estos usos.

Para la descripción de usos, se han incorporado los descriptores utilizados por la US EPA en el CDR y la ECHA en REACH (Tablas 3 a 5).

Tabla 62 Sector de Uso

Uso industrial
Uso profesional
Uso por parte del público en general

Tabla 63 Descriptor Suplementario de Uso

Agricultura, silvicultura, pesca
Industrias extractivas
Industrias en mar abierto
Elaboración de productos alimenticios
Fabricación de productos textiles, cuero, piel
Fabricación de papel y productos de papel
Fabricación de artes gráficas y reproducción de soportes grabados
Fabricación de productos químicos a granel a gran escala (incluidos los productos derivados del petróleo)
Fabricación de productos químicos finos
Formulación [mezcla] química y/o reenvasado (sin incluir aleaciones)
Fabricación de productos derivados de caucho
Fabricación de productos de plástico, incluyendo composición y conversión
Fabricación de otros productos minerales no metálicos, por ejemplo, yesos, cementos
Manufactura de metales básicos, incluidas las aleaciones
Fabricación de productos metálicos, excepto maquinaria y equipo
Fabricación de productos informáticos, electrónicos, ópticos y equipos eléctricos
Fabricación de maquinarias, equipos, vehículos y otros equipos de transporte.
Fabricación de muebles
Construcción y obras de construcción
Servicios de salud

Suministro de electricidad, vapor, gas y agua y depuración de aguas residuales
Investigación y desarrollo
Reciclaje
Otras actividades relacionadas con la fabricación de productos químicos (especificar)
Otra actividad relacionada con la producción y los servicios (especificar)

Tabla 64 Categoría de Producto

Abrasivos
Agentes anti-adhesivos
Agentes blanqueadores
Adhesivos, sellantes
Adsorbentes
Inhibidores de corrosión y agentes desincrustantes
Productos de higiene ambiental
Productos anticongelantes y descongelantes
Metales comunes y sus aleaciones
Productos biocidas/antimicrobianos (por ejemplo, desinfectantes o de control de plagas domiciliarios)
Revestimientos y pinturas, disolventes, decapantes
Rellenos, masillas, yeso, arcilla de modelado
Pinturas dactilares y de cara
Explosivos
Fertilizantes
Combustibles y aditivos de combustibles
Revestimientos y pinturas, disolventes, decapantes
Rellenos, masillas, yeso, arcilla de modelado
Productos de tratamiento de las superficies metálicas, incluidos los productos de galvanizado y electrólisis
Productos de tratamiento de superficies no metálicas
Fluidos portadores de calor
Fluidos hidráulicos
Tintas y tóner
Productos como reguladores del pH, agentes floculantes, precipitantes y neutralizantes
Productos químicos de laboratorio
Productos para el curtido, el teñido, el acabado, la impregnación y el cuidado del cuero
Lubricantes, grasas y desmoldeantes
Líquidos para metalurgia
Tintas para papel y cartón, productos de acabado e impregnación: se incluyen lejías y otros aditivos del procesado
Productos fitosanitarios agrícolas
Perfumes, fragancias
Medicamentos
Sustancias fotoquímicas
Abrillantadores y ceras
Preparados y componentes poliméricos

Semiconductores
Tintes para tejidos y productos de acabado e impregnación; se incluyen lejías y otros aditivos del procesado
Productos de lavado y limpieza (incluidos los productos que contienen disolventes)
Descalificadores de agua
Productos químicos para el tratamiento del agua
Productos de soldadura (con revestimientos fundentes o rellenos fundentes) y productos fundentes
Productos cosméticos y productos de cuidado personal
Disolventes de extracción
Agentes de acabado
Reguladores de viscosidad
Intermediarios
Agentes de separación de sólidos
Solventes que se vuelven parte de la formulación
Otro (especificar)

Los descriptores utilizados para la descripción de usos se basan en aquellos utilizados por la EPA en el CDR y la ECHA en el REACH.

Se pone a disposición de la autoridad la maqueta de la plataforma electrónica, en la dirección:

<http://190.113.0.128/~stest/cituc/>

ANEXO 1: FORMATO DE NOTIFICACIÓN Y REQUERIMIENTOS CDR – US EPA.

FORMULARIO U EPA 2012

CERTIFICACIÓN			
Declaración de Certificación: Por la presente certifico que:			
1) Toda la información introducida en este formulario es completa y exacta;			
2) La información confidencial contenida en este formulario es verdadera y correcta y ha sido confirmada.			
Cualquier interpretación errónea, intencional y deliberada está sujeto a sanción penal en virtud de 18 USC 1001			
Firma		Título Oficial	
Nombre Fecha de firma		Email Dirección	

PARTE I. EMPRESA E INFORMACIÓN DE IDENTIFICACIÓN	
SECCIÓN A. INFORMACIÓN DE LA COMPAÑÍA MATRIZ	
Nombre de la Compañía Matriz	
Dirección compañía matriz	
Ciudad /Estado	
País	
Código Postal	
SECCIÓN B. INFORMACIÓN DE LA EMPRESA	
Nombre de la empresa	
Dirección de la empresa	
Ciudad/ Estado	
País	
Código Postal	

SECCIÓN C. INFORMACIÓN DE CONTACTO TÉCNICO	
Nombre completo profesional responsable	
Nombre de la compañía	
Teléfono	
Correo electrónico	
Dirección postal (línea 1)	
Dirección postal (línea 2)	
Ciudad/Estado	
País	
Código Postal	

PARTE II. INFORMACIÓN DE FABRICACIÓN	
SECCIÓN A. IDENTIFICACIÓN QUÍMICA	

CBI* para la identificación química	
Número Identificación química (CAS)	
Nombre químico	
Número de código ID	

SECCIÓN A: INFORMACIÓN DE ENVÍO CONJUNTO			
Nombre comercial			
Otra información			
Nombre compañía secundaria			
Dirección compañía secundaria			
Ciudad			
Estado/Provincia			
Código postal		País	

SECCIÓN B. INFORMACIÓN DE MANUFACTURA				
CBI* de identificación de la empresa		Número de trabajadores expuestos		CBI*
CBI* de identificación de la empresa		Concentración máxima		CBI*
CBI* de información del contacto técnico		¿La sustancia química es reciclada?		CBI*

Reporte de volumen de producción (PV)			Reporte de forma física	a. Forma física		% PV en Cada forma física	
Actividad		CBI*:		Marque todo lo que corresponda	CBI*	Porcentaje	CBI*
Manufactura nacional		CBI*:	Polvo seco	gránulos o cristales			
Importación		CBI*:		agua o disolvente sólido húmedos			
Sustancia nunca ha estado físicamente en la empresa		CBI*:		Otros sólidos			
Volumen utilizado en la empresa		CBI*:		Gas o vapor			
Volumen exportado		CBI*:		líquido			
				desconocido			

ANEXO 2: CONJUNTO DE DATOS BÁSICOS TOXICOLÓGICOS Y ECOTOXICOLÓGICOS NECESARIOS PARA HACER UN JUICIO INFORMADO ACERCA DE LOS PELIGROS UNA SUSTANCIA QUÍMICA.

En la actualidad, la determinación de las propiedades toxicológicas y ecotoxicológicas alcanza una gran trascendencia social, debido al importante número de sustancias químicas comercializadas a nivel mundial y a su posible impacto sobre la salud humana y ambiental. Por esta razón, es fundamental caracterizar el perfil de peligro de las sustancias químicas previo a su puesta en el mercado de manera que trabajadores y consumidores puedan estar debidamente informados de las propiedades intrínsecas de estos productos. Del mismo modo, la evaluación de peligros es uno de los pilares básicos para la evaluación de los riesgos asociados a lo largo del ciclo de vida de una sustancia química.

Organizaciones internacionales han desarrollado directrices para legislar, armonizar, caracterizar y garantizar la seguridad de las sustancias químicas. La armonización de los protocolos utilizados en todo el mundo ha reducido en forma significativa el uso de animales de experimentación y en muchos casos, el dolor y estrés asociado a los mismos. La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, fue la primera organización internacional en establecer criterios de armonización de los ensayos realizados en animales de experimentación, siendo aceptados por todos los países miembros de dicha organización.

Bajo el programa OECD HPV, la información a recopilar se encuentra establecida bajo el *Screening Information Data Set* (SIDS). El SIDS se estructura en 5 componentes: información de la sustancia, propiedades físico-químicas, destino ambiental, toxicología ambiental y toxicología de efectos sobre especies mamíferos. Para efecto de recolección de la información, ésta se compila bajo los denominados *robust studies summaries* (RSS) cuyas plantillas se encuentran disponibles en <http://www.oecd.org/ehs/templates>. En un trabajo conjunto entre la OECD y la Agencia Europea de Sustancias Químicas (antiguamente European Chemicals Bureau) se ha desarrollado una base de datos denominada *International Uniform Chemical Information Database* (IUCLID 5)²⁰ que permite recopilar la información, integrando las RSS y permitiendo el intercambio de información bajo el programa HPV, entre otros.

²⁰ <http://iuclid.eu/>

Información de la sustancia

En principio, los siguientes parámetros son considerados necesarios para realizar un juicio informado sobre los peligros asociados a la sustancia química y un eventual cálculo preliminar de exposición. Aquellos parámetro identificados como “Elemento SIDS” se identifican como requerimientos mínimos de acuerdo al programa HPV/CoCAP, sin embargo, puede incorporarse mayor información e incluso focalizarse en aquellos parámetros relevantes de investigar en particular para algunas sustancias químicas.

Identidad Química

- Número CAS,
- Nombre,
- Descriptor CAS,
- Fórmula estructural,
- Composición de la sustancia.

Cantidad

- Volumen anual de producción/importación en rangos.

Información de uso y exposición

Información de exposición a través de descriptores de uso.

Propiedades fisicoquímicas

Estos parámetros deben ser incluidos para aquellas sustancias o categoría de sustancias para los que es relevante y técnicamente factible su evaluación.

Punto de fusión

Elemento SIDS. De acuerdo a lo establecido en la OECD Guideline 102

Punto de ebullición

Elemento SIDS. De acuerdo a lo establecido en la OECD Guideline 103

Densidad relativa

Elemento SIDS para inorgánicos. De acuerdo a lo establecido en la OECD Guideline 109

Presión de vapor

Elemento SIDS. De acuerdo a lo establecido en la OECD Guideline 103

Solubilidad (agua)

Elemento SIDS. De acuerdo a lo establecido en la OECD Guideline 105.

Coefficiente de partición octanol-agua

Elemento SIDS. De acuerdo a lo establecido en la OECD Guideline 107 y 117.

Constante de disociación

Elemento SIDS. De acuerdo a lo establecido en la OECD Guideline 112. No aplicable para aquellos compuestos que no poseen grupos funcionales capaces de disociarse.

Potencial óxido-reducción.

Elemento SIDS para inorgánicos.

Destino ambiental

Foto degradación

Elemento SIDS.

Estabilidad en agua

Elemento SIDS.

Transporte y distribución ambiental

Elemento SIDS.

Biodegradación

Elemento SIDS.

Bioacumulación

No es un elemento SIDS.

Toxicología ambiental

Toxicidad aguda en peces

Elemento SIDS.

Toxicidad aguda en dafnias

Elemento SIDS.

Toxicidad aguda en algas

Elemento SIDS.

Toxicidad crónica

Elemento SIDS, si las propiedades fisicoquímicas lo indican.

Toxicidad a microorganismos

No es un elemento SIDS.

Toxicidad terrestre

No es un elemento SIDS.

Toxicidad organismos en sedimentos

No es un elemento SIDS.

Toxicología mamíferos**Toxicocinética**

No es un elemento SIDS, sin embargo, es necesario al menos recopilar la información disponible para determinar las vías relevantes de exposición humana.

Toxicidad aguda

Es un elemento SIDS.

Irritación/corrosión

No es un elemento SIDS, pero se recomienda su inclusión. En el caso de la corrosión dérmica, ésta se debe evaluar para todos los productos de acuerdo a las reglamentación internacional y chilena relacionada al transporte de materiales peligrosos. En el caso de la irritación dérmica, se disponen de suficientes ensayos in vitro, de bajo costo, que permiten evaluar este parámetro.

Sensibilización cutánea

No es un elemento SIDS.

Toxicidad a dosis repetidas

Es un elemento SIDS.

Genotoxicidad

Es un elemento SIDS.

Carcinogenicidad

No es un elemento SIDS.

Toxicidad al desarrollo

Es un elemento SIDS.

Neurotoxicidad

Es un elemento SIDS.

A continuación, se presenta una breve descripción de aquellos parámetros toxicológicos y ecotoxicológicos relevantes para la caracterización del perfil (eco) toxicológico de una sustancia química, incluyendo una breve descripción de algunos parámetros no SIDS.

.

Evaluación Toxicológica

Toxicidad Aguda

La Toxicidad aguda es un elemento contemplado por la OCDE como un elemento básico para la evaluación de toxicidad de productos químicos.

La investigación de los efectos agudos pretende clasificar a las sustancias químicas por su peligrosidad. Para ello, se realizan ensayos toxicológicos en animales de experimentación siguiendo protocolos definidos y así obtener información relevante para proteger a los trabajadores durante la producción, transporte, almacenamiento y utilización de las sustancias químicas, además de resguardar tanto al consumidor como al medio ambiente.

La determinación de la toxicidad aguda es el primer paso de la evaluación de toxicidad de una sustancia química. El término *toxicidad aguda* se usa para describir los efectos adversos que pueden resultar de una sola exposición a una sustancia química o exposiciones múltiples en un periodo de 24 horas. Las vías de exposición pueden ser oral, cutánea y/o inhalación. Los efectos adversos pueden ser vistos como signos y síntomas clínicos de toxicidad, cambios anormales en el peso corporal, cambios patológicos en los órganos y tejidos que pueden eventualmente resultar en la muerte del animal de experimentación.

En los estudios de toxicidad aguda se obtiene la DL50 o la CL50, dependiendo de la vía de administración, parámetro que proporciona información que permite caracterizar y clasificar a las sustancias químicas, según su peligrosidad. Adicionalmente, la toxicidad aguda ayuda en la selección de las dosis de ensayo para estudios de toxicidad a dosis repetidas.

Se define dosis letal media (DL₅₀) como la dosis de una sustancia química que resulta mortal para la mitad de un conjunto de animales de experimentación. Se expresan normalmente en mg/kg y se emplea para sustancias líquidas o sólidas administradas por vía oral o dérmica. Para sustancias químicas inhaladas, se utiliza el término concentración letal media (CL₅₀) que es la concentración de una sustancia química de prueba que causa la muerte del 50 % de los animales de experimentación expuestos durante un tiempo determinado. El valor de la CL₅₀ se expresa como masa de la sustancia química por unidad de volumen de aire (mg/L, mg/m³, ppm).

El laboratorio debe considerar toda la información disponible sobre la sustancia de ensayo antes de la realización del estudio en animales de experimentación, a modo de referencia:

1. Identidad y la estructura química de la sustancia,
2. Propiedades físico-químicas,
3. Datos toxicológicos de sustancias estructuralmente relacionadas,
4. Uso previsto(s) de la sustancia,
5. Ensayos previos de toxicidad in vitro.

Esta información ayudará en la selección de una dosis inicial apropiada y la vía de exposición relevante para la exposición humana.

Ensayos in vivo para la determinación de DL50/CL50

Tanto la OCDE como la US EPA han desarrollado ensayos estandarizados para la evaluación de la toxicidad agua (Tabla 1).

Tabla 65: Ensayos de Toxicidad Aguda

US-EPA	OCDE	NOMBRE DEL ENSAYO	ADOPTADO EN
-	420	Toxicidad Aguda oral método de dosis fijas	Diciembre 2001
-	423	Método clásico de toxicidad oral aguda	Diciembre 2001
870.1100	425	Toxicidad aguda oral: Método de arriba y abajo	Diciembre 2001
-	403	Toxicidad aguda por inhalación	Septiembre 2009
870.1300	433	Toxicidad aguda por inhalación: Ensayo a dosis fijas	Octubre 2002
-	436	Toxicidad aguda por inhalación: Ensayo de la clase tóxica aguda	Septiembre 2009
870.1200	402	Toxicidad aguda por vía dérmica	
-	434	Toxicidad aguda por vía dérmica: Procedimiento de la dosis fija	Mayo 2004
870.2500	404	Toxicidad aguda: Irritación/corrosión dérmica	Julio 2015
870.2400	405	Toxicidad aguda: Irritación ocular	octubre 2012
870.2600	406	Sensibilización de la piel	Julio 1992
870.2600	429	Sensibilización dérmica. Nódulo linfático local	
-	430	Corrosividad en in vitro: Resistencia Eléctrica Transcutánea (TER)	Julio 2015
-	431	Corrosividad In vitro: Modelo de la epidermis humana reconstituida (RHE)	Julio 2015
-	435	Corrosividad in vitro: Método de la membrana barrera	Julio 2015
-	439	Irritación <i>In vitro</i> : Modelo de la epidermis humana reconstituida (RHE)	Julio 2013

Tras años de crítica, la OECD ha sustituido el ensayo de la determinación de la toxicidad aguda por vía oral TG401 por tres ensayos alternativas *in vivo* (OECD TG420, 423 y 425). Estos ensayos reducen significativamente el número de animales empleados, y en muchos casos, el dolor y el estrés asociado a los mismos. A partir de Julio del año 2001, en el ámbito reglamentario no se debería utilizar el método clásico toxicidad aguda DL₅₀ OCDE TG 401. Este método utilizaba varios grupos

experimentales simultáneamente con diferentes dosis, y una vez evaluada la mortalidad en cada grupo, se calculaba la DL₅₀, generalmente mediante sistemas Probit. Ha sido prohibido en vertebrados y sustituido por sistemas secuenciales, en los que se ensaya un grupo por etapa, y la dosis se decide según el resultado del grupo anterior.

En los métodos que se describen en este documento, se detallan los procedimientos de los ensayos:

- TG420 Método de la dosis fija,
- TG423 Método de la clase Tóxica aguda y
- TG425 Método arriba y abajo.

Aunque en estos ensayos no es posible calcular con exactitud la DL₅₀, si permite determinar la categoría de peligro de una sustancia o mezcla.

Consideraciones generales ensayos in vivo de toxicidad aguda vía oral

a) Administración de dosis: La sustancia de ensayo se administra en una dosis única por alimentación forzada mediante una sonda gástrica o una cánula. En ciertas circunstancias, cuando no es posible administrar una sola dosis, la sustancia química en estudio se puede fraccionar en varias dosificaciones durante un período no superior a 24 horas.

b) Selección de la especie animal: La especie preferida es la rata. Normalmente se utilizan hembras, debido a que la literatura señala que en estudios de ensayos convencionales de DL₅₀ en animales de experimentación no se ha observado una gran variabilidad y sensibilidad de respuesta entre ambos géneros y en aquellos casos en que se observan diferencias, las hembras son generalmente más sensibles que los machos. Sin embargo, si el conocimiento de las propiedades toxicológicas o toxicocinéticas de una sustancia química estructuralmente relacionadas indica que los machos tienden a ser más sensibles, este sexo se debe ser utilizado en la prueba, proporcionando la adecuada justificación. Se emplean animales adultos jóvenes y saludables. Las hembras deben ser nulíparas y no grávidas. Cada animal, al inicio de su administración, debe tener entre 8 y 12 semanas de edad y su peso debe estar en un intervalo de + 20% del peso medio de los animales previamente tratados.

c) Alojamiento y alimentación: La temperatura de la sala de experimentación donde se encuentra la jaula del animal debe estar en $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y la humedad relativa debe ser entre 30% a 70%. La iluminación debe ser artificial, en una secuencia de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Para la alimentación, dietas convencionales de laboratorio pueden usarse con un suministro ilimitado de agua potable. Los animales deben permanecer agrupados por el mismo sexo no más de cinco animales por jaula y en jaulas individuales cuando el estudio lo amerite.

d) Preparación del animal: Los animales son seleccionados al azar y marcados con identificación individual. Se deben mantener en sus jaulas durante al menos 5 días antes del comienzo de la prueba para que se acostumbren a las condiciones de laboratorio (etapa de aclimatación), ya que esto reducirá el estrés causado por la introducción al nuevo ambiente.

e) Volumen de dosis: El volumen máximo de líquido que puede administrarse de una sola vez depende del tamaño del animal de ensayo. En los roedores, el volumen no debe exceder de 1 ml/100 g de peso corporal, sin embargo, en el caso de soluciones acuosas 2 ml/100 g de peso corporal

puede ser considerado. Con respecto a la formulación de la preparación, se recomienda siempre que sea posible el uso de una solución acuosa, suspensión o emulsión, seguido en orden de preferencia por una solución/ suspensión/ emulsión oleosa (por ejemplo, aceite de maíz) y luego, posiblemente, la solución en otros vehículos. Para los vehículos que no sean agua, se deben conocer las características toxicológicas propias. Las dosis tienen que prepararse poco antes de la administración, a menos que la estabilidad de la preparación sea conocida y aceptable.

f) Administración de dosis: Los animales deben estar en ayuno antes de la administración de la sustancia química durante un periodo de 3-4 horas. Tras el período de ayuno, los animales deben ser pesados y posteriormente se les administrará la sustancia de ensayo. Después de que se haya administrado la sustancia, podrá continuarse el ayuno durante otras 3-4 horas en ratas o 1-2 horas en ratones. Todos los animales deben ser observados durante al menos 14 días, tras la administración de la sustancia química en estudio.

g) Consideraciones especiales: Los animales moribundos, que muestren signos de dolor y sufrimiento intenso y continuo durante el ensayo, deberán ser sacrificados de forma benevolente, según las directrices de la OECD. Dichos animales, serán considerados en la interpretación de los resultados de la prueba, de la misma manera como los animales que murieron durante el estudio.

A todos los animales de prueba, incluyendo los que mueren durante el ensayo y los sometidos a eutanasia, se les realiza una necropsia macroscópica. Todos los cambios patológicos brutos deben ser registrados para cada animal. El examen microscópico de los órganos que presenten huellas de patología macroscópica, en los animales que sobreviven 24 o más horas después de la dosis inicial, también puede ser considerado, ya que puede proporcionar información útil.

Método de la dosis fija - Guía OECD 420/2001

Descripción del método: Este ensayo utiliza ratas como animal de elección. Un total de cinco animales son utilizados por cada nivel de dosis. La sustancia de ensayo se administra individualmente por vía oral, de forma secuencial siguiendo los diagramas de flujo descritos en el procedimiento con dosis fijas de: 50, 300 y 2000 mg/kg, excepcionalmente se puede utilizar una dosis fija adicional de 5.000 mg/kg, dicha dosis se debe considerar sólo cuando existe una fuerte probabilidad que los resultados de esta prueba tengan una importancia directa para la protección de la salud humana, animal y/o el medio ambiente. El nivel de dosis inicial se selecciona sobre la base de un estudio preliminar, como la dosis esperada para producir algunos signos de toxicidad sin causar efectos tóxicos graves o mortalidad. En ausencia de tal información, la dosis inicial será 300 mg/kg. Según el resultado de la administración de esta dosis inicial, otros grupos de animales se pueden dosificar en dosis fijas mayores o menores, dependiendo de la presencia o ausencia de signos de toxicidad o mortalidad.

Este procedimiento continúa hasta alcanzar la dosis que produzca toxicidad evidente o hasta que no se observen efectos adversos con la dosis más alta descrita o si se observan muertes con la dosis más baja estudiada. El intervalo de tiempo entre la dosificación en cada nivel está determinado por la aparición, duración y gravedad de los signos tóxicos. El tratamiento de los animales en la siguiente dosis debe retrasarse hasta que haya seguridad de la supervivencia de los animales previamente

tratados. Se recomienda un periodo de 3 o 4 días entre la dosificación en cada nivel de dosis, si es necesario, para permitir la observación de toxicidad retardada.

Los animales se observan de forma individual después de la administración de la sustancia química, con especial atención durante las primeras 4 horas, y luego todos los días a partir de entonces, hasta alcanzar un máximo de 14 días, salvo en los aquellos casos en que los animales sean encontrados muertos o que requieran ser sacrificados durante el estudio.

Se debe determinar el inicio de la reacción tóxica y la duración del período de recuperación. Todas las observaciones se registran sistemáticamente en fichas individuales para cada animal. Las observaciones deben incluir cambios en la piel, ojos y membranas mucosas, además de efectos en sistemas como el respiratorio, circulatorio, sistema nervioso autónomo y central y el patrón de comportamiento del animal. Se da atención especial a la observación de temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargia, somnolencia y coma.

Método clásico de toxicidad aguda oral – Guía OECD 423/2001

Descripción del método: Este ensayo tiene un enfoque que evita el uso de un gran número de animales y la muerte de éstos como criterio de valoración, ya que se basa en la observación de signos claros de toxicidad en cada serie de niveles de dosis fijas, utilizando un número mínimo de animales para obtener suficiente información sobre la toxicidad aguda de la sustancia de ensayo y así permitir su clasificación.

Este ensayo utiliza ratas, tres animales por cada nivel de dosis. La sustancia de ensayo se administra por vía oral, de forma secuencial siguiendo los diagramas de flujo descrito en el ensayo, con dosis fijas de 5, 50, 300 y 2000 mg/kg, excepcionalmente se puede utilizar una dosis fija adicional de 5.000 mg/kg, dicha dosis se debe considerar sólo cuando hay una fuerte probabilidad de que los resultados de esta prueba tengan una importancia directa para la protección de la salud humana, animal y/o el medio ambiente.). El nivel de dosis inicial se selecciona sobre la base de un estudio preliminar, como la dosis esperada para producir signos de toxicidad sin causar efectos tóxicos graves o mortalidad. En ausencia de tal información, la dosis inicial será 300 mg/kg. La ausencia o presencia de mortalidad relacionada con el compuesto químico en los animales tratados en una primera fase determinarán el siguiente paso, es decir:

- a) No se necesita más pruebas.
- b) Dosificación de tres animales adicionales, con la misma dosis.
- c) Dosificación de tres animales adicionales en el nivel superior o inferior.

Los animales se observan de forma individual después de la administración de la sustancia química, con especial atención durante las primeras 4 horas, y luego todos los días a partir de entonces, hasta alcanzar un máximo de 14 días, salvo en los aquellos casos en que los animales sean encontrados muertos o que los animales muestren claros signos de dolor y sufrimiento intenso y continuo, en tal situación los animales serán sacrificados de forma benevolente y considerados en la interpretación de los resultados del ensayo de la misma manera como los animales que murieron durante el estudio.

Se debe determinar el inicio de la reacción tóxica y la duración del período de recuperación. Todas las observaciones se registran sistemáticamente en fichas individuales para cada animal. Las observaciones deben incluir cambios en la piel, los ojos y membranas mucosas, además de efectos en sistemas respiratorio, circulatorio, sistema nervioso autónomo y central, actividad somatomotriz y el patrón de comportamiento del animal. Atención especial debe ser dirigida a la observación de temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargia, somnolencia y coma.

Todos los animales de prueba, incluyendo los que mueren durante el ensayo y los que son sacrificados por eutanasia, deben ser sometidos a necropsia macroscópica. Todos los cambios patológicos brutos deben ser registrados para cada animal. El examen microscópico de los órganos que presenten huellas de patología macroscópica, en los animales que sobreviven 24 o más horas después de la dosis inicial, también puede ser considerado, ya que puede proporcionar información útil.

Toxicidad aguda oral método de arriba y abajo - Guía OECD 425/2001

Descripción del método: Este ensayo reduce al mínimo el número de animales requeridos para estimar la toxicidad oral aguda de una sustancia química. Además de la estimación de la DL₅₀ y su intervalo de confianza, la prueba permite la observación de signos de toxicidad.

Se emplea un solo animal en cada etapa de dosificación, generalmente una rata hembra. Para seleccionar la dosis inicial toda la información disponible, incluyendo información de sustancias estructuralmente relacionadas y resultados de cualquier otro test de toxicidad en el material testeado debe ser usado para aproximar la LD₅₀, al igual que la pendiente de la curva dosis-respuesta. Si no hay información disponible para realizar una estimación de la LD₅₀ y la pendiente de la curva dosis-respuesta del compuesto en estudio, resultados de simulaciones computacionales han sugerido que el estudio comience con dosis cercanas a los 175 mg/Kg usando unidades semi-logarítmica (que corresponde a una progresión de dosis con factor 3,2) entre dosis que producirán el mejor resultado. Esta dosis inicial debería ser modificada si existe una alta probabilidad que la sustancia sea altamente tóxica.

Factor de progresión de la dosis: se denomina al factor de espaciado de una dosis, se refiere a la múltiple mediante el cual se aumenta una dosis (es decir, la progresión dosis) cuando un animal sobrevive o el divisor por el que se disminuye cuando un animal muere. El factor de progresión es el antilogaritmo de $1 / (\text{la pendiente estimada de la curva de dosis-respuesta})$. El valor predeterminado que se recomienda es: $3.2 = \text{antilog } 0.5 = \text{antilog } (1/2)$.

La prueba principal se compone de una progresión ordenada de dosis únicas, el primer animal se dosifica un paso por debajo de la mejor estimación preliminar de la DL₅₀. Si el animal sobrevive, el segundo animal recibe una dosis más alta. Si el primer animal muere o aparece moribundo, el segundo animal recibe una dosis más baja. El factor de progresión de dosis debe ser elegido para ser el antilogaritmo de $1 / (\text{la pendiente estimada de la curva de dosis-respuesta})$ (un factor de progresión de 3,2 corresponde a una pendiente de 2) y debe permanecer constante durante toda la prueba. Cuando no hay información sobre la pendiente de la sustancia a ensayar, se utiliza un factor de progresión dosis de 3,2. Utilizando el factor de progresión predeterminada, las dosis serían seleccionados de la secuencia de 1,75, 5,5, 17,5, 55, 175, 550, 2000. Si no hay información disponible

de la estimación de la letalidad de la sustancia, la dosificación debe iniciarse con 175 mg/kg. En la mayoría de los casos, esta dosis es sub-letal y por lo tanto sirve para reducir el nivel de dolor y sufrimiento en los animales de experimentación.

Los animales son dosificados individualmente en intervalos de tiempo mínimo de 48 horas. Si el animal sobrevive a la primera dosis, la dosis para el siguiente animal se incrementa por el factor de progresión determinado, si muere, la dosis para el siguiente animal se reduce en una progresión dosis similar. Los animales ensayados son designados en series, en la que X y O indican resultados opuestos, X indica "animal muere dentro de las 48 horas de observación" y O indica "sobrevive". El número máximo de animales estudiados es 15. La OECD proporciona un programa informático para facilitar los cálculos de los resultados del ensayo en los animales de experimentación que establece secuencias de pruebas y estimados finales. El ensayo se detiene cuando se cumplen uno de los siguientes criterios:

- a) 3 animales consecutivos sobreviven a las dosis más altas
- b) Se observan 5 reversiones en 6 animales examinados
- c) Al menos 4 animales han seguido el primer cambio de sentido y el cociente de probabilidad sobrepasa un determinado valor.

Cuando existen antecedentes de que la sustancia química en estudio supone baja toxicidad, se puede realizar el ensayo límite. Se efectúa aplicando una dosis de 2000, o excepcionalmente 5000 mg/Kg a 1 animal. Si muere, se realiza el ensayo completo, si sobrevive, se confirma la baja toxicidad usando secuencialmente 2 animales.

Consideraciones generales ensayos in vivo de Toxicidad aguda vía inhalatoria

Los estudios de toxicidad aguda por inhalación son el medio idóneo para la caracterización de los peligros agudos por inhalación de sustancias químicas y para satisfacer los requisitos de etiquetado. Por razones de bienestar animal, los ensayos con dosis sobre la concentración límite (es decir, con clasificación GHS clase 5) no se recomiendan y sólo se deben considerar, si existe una fuerte probabilidad de que los resultados de una prueba de este tipo tengan relevancia directa sobre la protección de la salud humana. Es necesario considerar toda la información disponible de la sustancia de estudio antes de considerar el ensayo, además de su estado físico, ya que los límites de clasificación del GHS actuales son diferentes para gases, vapores y aerosoles y ello afectará su clasificación.

Estos ensayos se basan en las concentraciones, es decir, en la masa de la sustancia química en estudio por unidad de volumen de aire, tales como mg/L, mg/m³ o en unidades volumétricas de gas como ppm.

- a) Modo de exposición: Para administrar la sustancia inhalada, se utilizan cámaras de inhalación. Las técnicas más utilizadas son: a) exposición del animal a cámaras de cabeza/nariz y b) exposición de todo el cuerpo del animal a la cámara de inhalación. El método de exposición cabeza/nariz minimiza el riesgo de absorción de la sustancia química estudiada por otras vías de exposición, además permite realizar ensayos con altas concentraciones sin la necesidad de emplear grandes cantidades del material de prueba. Por otro lado, la inestabilidad de los compuestos de ensayo (por ejemplo, la

reactividad con los excrementos o la humedad) y mantenimiento de una atmósfera de ensayo homogéneo son de menor preocupación cuando se utiliza esta técnica. La duración requerida para alcanzar el equilibrio de cámara de inhalación es mínimo en la cámara de inhalación cabeza/nariz.

b) Técnica de exposición cabeza/nariz: Durante la exposición, los animales se exponen a la sustancia de ensayo en tubos de exposición que contienen al animal sin imponer tensión indebida. Los tubos de contención deben estar diseñados de tal manera que eviten el riesgo de hipertermia y que sea imposible para el animal evitar la exposición por inhalación. La cámara de inhalación debe ser operada en campanas químicas bien ventiladas. El mantenimiento de una ligera presión negativa en el interior dicha campana evitará la fuga de la sustancia de ensayo en las áreas circundantes. El dispositivo de inhalación debe mantener un flujo de aire dinámico que exceda al menos dos veces el volumen de ventilación de la respiración de todos los animales en el dispositivo de inhalación. Un contenido de oxígeno adecuada de al menos un 19% y las condiciones de exposición similares en cada puerto de exposición deben garantizarse para el ensayo.

c) Técnica de exposición de todo el cuerpo del animal: Los animales deben ser probados mediante dispositivo de inhalación para mantener un flujo de aire dinámico de aproximadamente 12 a 15 cambios de aire por hora. Otros caudales de aire pueden ser útiles para cumplir los requisitos específicos impuestos por el compuesto de ensayo. Se debe garantizar un contenido de oxígeno adecuada de al menos un 19% y un reparto uniforme de la sustancia en estudio. Como regla general, para garantizar la estabilidad de la atmósfera de la cámara, el volumen total de los animales de ensayo no debe exceder de 5% del volumen de la cámara de prueba. El mantenimiento de una ligera presión negativa dentro de la cámara evitará la fuga de la sustancia de ensayo en las áreas circundantes.

d) Condiciones de la exposición: Se recomienda una duración fija de la exposición durante cuatro horas. Se pueden necesitar otras duraciones para satisfacer requerimientos específicos, sin embargo, la justificación debe ser proporcionada en el informe del estudio. Los animales expuestos en las cámaras de todo el cuerpo deben ser alojados individualmente para evitar la ingestión de la sustancia química de ensayo al lamer el pelaje.

Los animales son expuestos a la sustancia de ensayo a través de un gas, vapor, aerosol, o una mezcla de los mismos. Sustancias químicas higroscópicas y químicamente reactivas deben ser probadas en condiciones de aire seco. Se debe tener cuidado para evitar la generación de concentraciones explosivas.

e) Tamaño de partícula: El tamaño de partículas de los aerosoles debe permitir la exposición a todas las regiones del tracto respiratorio en los animales de experimentación. Es difícil predecir la región más sensible del tracto o el rango de tamaño de partículas más perjudiciales. Para permitir la exposición de todo el tracto respiratorio, se recomienda un aerosol con un diámetro aerodinámico mediano de masa (MMAD) de entre 1 y 4 μm y una desviación estándar geométrica (GSD) en el intervalo de 1,5 a 3,0.

f) Vehículos: Un vehículo puede ser utilizado para generar una concentración y tamaño de partícula apropiado para administrar la sustancia química al animal de experimentación. Por regla general, se prefiere el agua.

El material particulado puede ser sometido a procesos mecánicos para lograr la distribución de tamaño de partícula requerido, sin embargo, se debe evitar descomponer o alterar el artículo testeado. En los casos donde se cree que los procesos mecánicos pueden alterar a la sustancia estudiada (por ejemplo, temperatura extrema de la molienda excesiva debido a la fricción), la composición de esta deberá ser verificada analíticamente. Se debe tomar tención adecuada para no contaminar el material de prueba.

g) Grupo de animales de control: Sólo se considera cuando se utiliza un vehículo que no es agua y no se disponen de datos de toxicidad de este por inhalación.

h) Temperatura de la cámara y humedad relativa: Temperatura de la cámara de inhalación debe mantenerse a 22 ± 3 ° C y la humedad relativa ideal es entre 30 a 70%.

Toxicidad aguda por inhalación - Guía OECD 403/2009

Descripción del método: Este método proporciona información sobre los peligros que pueden derivarse de la exposición por vía inhalatoria a una sustancia química de ensayo (gas, vapor o aerosol) por un corto periodo de tiempo. La sustancia química de ensayo, se administra a través de cámaras de inhalación, se prefiere la técnica de cabeza/nariz.

Este ensayo fue diseñado para obtener información sobre toxicidad aguda por inhalación de una sustancia de prueba para permitir su clasificación, según el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos y para proporcionar datos de letalidad (LC50, LC01 y pendiente) para uno o ambos sexos, según sea necesario para la evaluación de riesgos cuantitativos. Ofrece dos métodos de prueba. El primer método es un protocolo tradicional en el que grupos de animales se exponen a una concentración límite (prueba límite) o una serie de tres concentraciones en un procedimiento paso a paso durante en un intervalo de tiempo de 4 horas. Por lo general, 10 animales deben utilizarse para cada concentración. El segundo método es un protocolo de concentración x tiempo (C x t) en el que grupos de animales se exponen a una sola concentración límite o una serie de concentraciones, a través de múltiples duraciones de tiempo. Por lo general, se utilizan 2 animales por C x t intervalo. Ambos protocolos pueden incluir un estudio preliminar, un estudio principal, y/o una prueba de límite (protocolo tradicional) o la prueba a una concentración límite (C x t). Ambos métodos incluyen mediciones diarias y observaciones detalladas, así como necropsia macroscópica.

PROTOCOLO TRADICIONAL

Estudio preliminar: El estudio preliminar se realiza para estimar la potencia de una sustancia de prueba, identificar las diferencias de susceptibilidad de sexo y ayudar en la selección de los niveles de concentración para el estudio principal o ensayo límite. Al seleccionar los niveles de concentración para el estudio preliminar, toda la información disponible debe ser utilizada, incluyendo datos disponibles (Q) SAR y de productos químicos estructuralmente similares. 3 machos y 3 hembras deben ser expuestos en cada concentración (cantidad necesaria para establecer una diferencia de sexo). Un estudio preliminar puede consistir en una sola concentración, pero más concentraciones pueden ser probadas si fuese necesario.

Ensayo límite: Se aplica cuando se supone una baja toxicidad en la sustancia química de ensayo y existe una fuerte probabilidad de que los resultados de dicha prueba tendrán relevancia directa en la protección de la salud humana y del medio ambiente. Un solo grupo de 3 machos y 3 hembras se expone a una concentración límite. En aquellas situaciones donde hay poca o ninguna información sobre su toxicidad, o se espera que el material de prueba sea tóxico, se debe realizar la prueba principal. Las concentraciones límites para el Sistema de Clasificación GHS son 20.000 ppm, 20 mg/L y 5 mg/L para gases, vapores y aerosoles, respectivamente.

Si se observa mortalidad o efectos tóxicos en la concentración límite, los resultados de dicha prueba pueden servir como un estudio preliminar para su análisis posterior en otras concentraciones.

Estudio principal: Se utilizan 5 machos y 5 hembras (o 5 animales del sexo susceptibles, si se conoce) por nivel de concentración, con al menos tres niveles de concentración. Los niveles de concentración suficiente deben utilizarse para obtener un buen análisis estadístico. El intervalo de tiempo entre los grupos de exposición se encuentra determinada por la aparición, duración y gravedad de los signos tóxicos. La exposición de los animales en el siguiente nivel de concentración debe retrasarse hasta que haya una confianza razonable de supervivencia de los animales previamente probados. Esto permite que el director del estudio pueda ajustar la concentración objetivo para el próximo grupo de exposición.

PROTOCOLO CONCENTRACIÓN X TIEMPO (C X T)

El ensayo C x t puede ser considerado como una alternativa al protocolo tradicional para evaluar la toxicidad por inhalación. Este enfoque permite que los animales sean expuestos a una sustancia de prueba en varios niveles de concentración y en múltiples intervalos de tiempo. Análisis de simulación han demostrado que el protocolo tradicional y el protocolo C x t son capaces de producir valores adecuados de LC50, pero que el protocolo C x t posee mejor rendimiento.

Estudio preliminar: Se utiliza para estimar la potencia de la sustancia de prueba, para ayudar en la selección de los niveles de concentración de exposición para el estudio principal y para reducir al mínimo el número de animales utilizados. Se prueban hasta 3 animales/sexo/concentración. Estos animales deben estar expuestos a una única duración, en general 240 min (4 horas).

Estudio Principal:

Concentración inicial: Será la concentración límite o una concentración seleccionada por el director del estudio basado en el estudio preliminar. Grupos de 1 animal por sexo se exponen a esta concentración para múltiples intervalos de tiempo (15, 30, 60, 120, o 240 minutos), lo que resulta en un número total de 10 animales por concentración. Se utilizan 4 niveles de dosificación. (En situaciones excepcionales se puede considerar un 5to nivel). Para el sistema de clasificación GHS las concentraciones límite para gases, vapores y aerosoles son 20.000 ppm, 20 mg/L y 5 mg/L, respectivamente. Si se observa mortalidad con la concentración inicial, después de la primera sesión de exposición, la exposición mínima (C x t) que se traduce en mortalidad se tomará como guía para establecer la concentración y períodos de exposición para la segunda Sesión de Exposición. Cada sesión de exposición posterior dependerá de la sesión anterior. Los animales deben ser observados clínicamente con frecuencia durante el período de exposición. Posteriormente, se realizan las observaciones clínicas al menos dos veces en el día, o con más frecuencia en relación a la respuesta de los animales al tratamiento, y al menos una vez al día a partir de entonces por un total de 14 días.

Todas las observaciones se registrarán sistemáticamente en fichas individuales para cada animal. Los animales moribundos, que muestren signos de dolor y sufrimiento intenso y continuo durante el ensayo, deberán ser sacrificados de forma benevolente, según las directrices de la OCDE. Dichos animales, serán considerados en la interpretación de los resultados de la prueba, de la misma manera como los animales que murieron durante el estudio.

Tabla 66: Comparación Ensayo OCDE 403/US-EPA 870.1300

Parámetro Evaluado	OECD 403 Protocolo tradicional	EPA OPPTS 870.1300 Solo un protocolo
Período de Exposición	Dosis única vía inhalatoria por 4 horas	Dosis única vía inhalatoria por 4 horas
Especie seleccionada	Ratas	Ratas
Edad	8 a 12 semanas de edad	8 a 12 semanas de edad
Número de animales por grupo	Estudio preliminar 6 animales (3 de cada sexo) Prueba principal 10 animales (5 de cada sexo)	10 animales (5 machos y 5 hembras)
Grupos de ensayos	Prueba principal: 3 niveles de concentración	3 niveles de concentración
Dosis prueba límite	20.000 ppm, 20 mg/L y 5 mg/L para gases, vapores y aerosoles	2 mg/L
Administración de sustancia	Por cámara de inhalación. Se prefiere técnica cabeza/nariz.	Por cámara de inhalación. Se prefiere técnica cabeza/nariz.
Periodo de observación	14 días	14 días
Observaciones clínicas	Al menos 2 veces al día	Al menos 1 vez al día

Toxicidad aguda por inhalación: Procedimiento de dosis fija- Guía OCDE 433/2002

Descripción del método: Se realiza un estudio preliminar cuyo propósito es permitir la selección de la concentración de partida más apropiada para el ensayo principal. La sustancia de ensayo se administra vía inhalatoria a una rata hembra de forma secuencial siguiendo los diagramas de flujo por un período de al menos 4 horas. El estudio preliminar se completa cuando: a) se alcanza la concentración que produce toxicidad evidente; b) cuando no se observa efecto en la concentración más alta o; c) cuando ocurren muertes en la concentración más baja estudiada. La concentración de partida para el estudio preliminar se selecciona a partir de la evidencia de los datos de estudios previos *in vivo* y/o *in vitro* del producto químico en estudio o de sustancias químicas estructuralmente relacionadas. En ausencia de tal información, la concentración de partida será de 10 mg/L, 1 mg/L o 2500 ppm para vapores, polvos/neblinas y gases, respectivamente. El intervalo de tiempo entre la dosificación de cada animal será de al menos 24 horas.

En los casos en que se realice un estudio preliminar con el nivel más bajo de concentración fija y el animal muera o se observen claros signos clínicos de toxicidad, se dará por terminado el ensayo y la sustancia química se clasificará en clase 1 del GHS. Sin embargo, si se requiere una confirmación

adicional de la clasificación, un procedimiento complementario opcional puede llevarse a cabo. Un segundo animal se prueba en la concentración fija más baja. Si este segundo animal muere, entonces se confirmará su clasificación GHS Clase 1 y el estudio se dará por terminado. Si el segundo animal sobrevive, se pondrá a prueba un máximo de tres animales adicionales a esta concentración. Debido a que habrá un alto riesgo de mortalidad, estos animales deberán ser probados uno a uno. El intervalo de tiempo entre la exposición de cada animal debe ser suficiente para poder determinar si el animal anterior sobrevive. Si se produce una segunda muerte, la secuencia de la prueba se dará por terminada inmediatamente.

Estudio principal: Un total de cinco animales de un sexo (hembra) se utiliza en cada nivel de concentración fija. El intervalo de tiempo entre la exposición a cada nivel está determinado por la aparición, duración y gravedad de los signos de toxicidad. El tratamiento de los animales en la próxima concentración debe retrasarse hasta que haya confianza en la supervivencia de los animales previamente probados. Se recomienda un periodo de tres o cuatro días entre las exposiciones en cada nivel de concentración para permitir la observación de toxicidad retardada.

Prueba Límite: El ensayo límite se utiliza en situaciones en las que el experimentador tiene información que indica que el material de prueba es probable que sea no tóxico, es decir, solo resulta tóxica por encima de las dosis límite reglamentarias. En este caso el estudio preliminar comienza con una concentración de 20 mg/l, 5 mg/l o 5000 ppm para los vapores, polvos/neblinas y gases, respectivamente, seguido por la exposición de otros cinco animales en este nivel sirve como un límite prueba de esta directriz.

Tabla 67: Dosificación Guía 433

	NIVELES DE DOSIS FIJAS
Vapores	0,5; 2; 10 y 20 mg/l
Polvos/neblinas	0,05; 0,5; 1 y 5 mg/l
Gases	100; 500; 2500 y 5000 ppm

Los animales deben ser observados durante 14 días consecutivos, con excepción de aquellos animales que mueren durante el ensayo o aquellos que muestren claros signos de dolor y sufrimiento intenso y continuo, en tal situación serán sacrificados de forma benevolente y considerados en la interpretación de los resultados del ensayo de la misma manera como los animales que murieron durante el estudio.

Toxicidad aguda por inhalación: Ensayo de la clase tóxica aguda - Guía OECD 436/2009

Descripción del método: Reemplaza a la guía TG 403 de Toxicidad aguda por inhalación que había sido adoptada en el año 1981.

Este ensayo no requiere un estudio preliminar y utiliza a roedores como especie de elección. Se debe considerar la naturaleza de la sustancia química en estudio y el objetivo del ensayo al momento de elegir la cámara de inhalación que será utilizada. La técnica preferida de exposición para aerosoles líquidos o sólidos y vapores que pueden condensarse para formar aerosoles es la de cabeza/nariz.

En base a este procedimiento paso a paso, se obtiene la información suficiente sobre la toxicidad aguda por inhalación de la sustancia química estudiada que permitirá su clasificación.

Tres animales por sexo, o seis animales del sexo más susceptibles, se utilizan en cada paso. El nivel de concentración que se utilizará como la dosis inicial se selecciona entre uno de los cuatro niveles fijos descritos en el procedimiento, como la concentración más probable para producir toxicidad en algunos de los animales dosificados, según el análisis previo de toda la información disponible de la sustancia en estudio y de sustancias químicas estructuralmente similares.

Tabla 68: Niveles de dosis fijas/ tiempo de exposición

	NIVELES DE DOSIS FIJAS	TIEMPO EXPOSICIÓN
VAPORES	0,5; 2; 10 y 20 mg/L	4 horas
AEROSOLES	0,05; 0,5; 1 y 5 mg/L	4 horas
GASES	100; 500; 2500 y 20000 ppm	4 horas

En función de la presencia o ausencia de mortalidad, más grupos de animales pueden ser expuestos a concentraciones fijas superiores o inferiores, hasta que sea posible de manera inequívoca la clasificación de la sustancia química de prueba.

El intervalo de tiempo entre los grupos de exposición es determinado por la aparición, duración y gravedad de los signos tóxicos. La exposición de los animales en el siguiente nivel de concentración debe retrasarse hasta que haya una confianza razonable en la supervivencia de los animales previamente probados. Se recomienda un periodo de tres o cuatro días entre las exposiciones en cada nivel de concentración para permitir la observación de toxicidad retardada.

El ensayo límite se utiliza cuando se conoce o espera que la sustancia química estudiada sea prácticamente no tóxica, es decir, que provocará una respuesta sólo por encima de la concentración límite. Este ensayo, al igual que el ensayo principal consiste en administrar por vía inhalatoria de una sustancia a tres ratas por sexo, o seis ratas del sexo más susceptibles, concentraciones de 20.000 ppm para gases, 20 mg/l para vapores y 5 mg/L polvos/ neblinas, respectivamente por un periodo de 4 horas y observar sus efectos.

Los animales deben ser observados clínicamente con frecuencia durante el período de exposición. Después de la exposición, las observaciones clínicas deben realizarse al menos dos veces en el día, durante 14 días. El período de observación no es fijo, sino que debe ser determinado por la naturaleza y el tiempo de aparición de los signos clínicos y la duración del período de recuperación.

A todos los animales del ensayo, incluidos los que mueren durante la prueba o los sometidos a eutanasia, se les realiza una necropsia macroscópica. Todos los cambios patológicos brutos deben ser registrados para cada animal, con especial atención a cualquier cambio en el tracto respiratorio. Exámenes adicionales puede ser considerado, incluyendo el análisis microscópico, para extender el valor interpretativo del estudio y proporcionar mayor evidencia de irritación de la vía respiratoria.

Consideraciones generales ensayos in vivo de Toxicidad aguda vía dérmica

Al igual que en todos los estudios de toxicidad aguda, toda la información disponible sobre la sustancia de ensayo debe ser considerada por el laboratorio de pruebas antes de la realización del

ensayo en animales de experimentación. Dicha información incluirá la identidad y la estructura química de la sustancia; sus propiedades físico-químicas; los resultados de cualquier otro ensayo *in vitro* o en ensayos de toxicidad *in vivo* de la sustancia; los datos disponibles (Q) SAR y datos toxicológicos sobre sustancias estructuralmente relacionadas; el uso previsto (s) y el potencial de exposición humana. Esta información ayudará en la selección de una dosis inicial apropiada.

a) Preparación de los animales: Se deben aclimatar a las condiciones de laboratorio durante al menos cinco días antes del comienzo del ensayo. Aproximadamente 24 horas antes del inicio del estudio, los animales son afeitados en la zona dorsal del tronco. Se debe tener cuidado para evitar la abrasión de la piel, lo que podría alterar su permeabilidad. Al menos 10% del área de superficie corporal debe ser preparado para la aplicación de la sustancia de ensayo.

b) Administración de la dosis: La sustancia de ensayo debe aplicarse uniformemente y con una fina capa sobre un área que es de aproximadamente 10% de la superficie corporal total. Las sustancias de ensayo deben mantenerse en contacto con la piel con un apósito de gasa porosa no irritante durante todo un período de exposición de 24 horas. El sitio de prueba se debe cubrir adecuada para mantener el apósito de gasa y así asegurarse de que los animales no puedan ingerir la sustancia de ensayo.

Al probar sustancias sólidas, estas deberán humedecerse con agua o, en su caso, con un vehículo adecuado para asegurar un buen contacto con la piel. Cuando se utiliza un vehículo, la influencia del vehículo en la penetración de la piel por la sustancia de ensayo debe tenerse en cuenta. Las sustancias líquidas se utilizan generalmente sin diluir. Al final del período de exposición, la sustancia de ensayo residual debe ser eliminada utilizando agua.

c) Selección de la especie animal: En los estudios de toxicidad aguda dérmica se pueden utilizar ratas, conejos o conejillos de indias de un solo sexo, generalmente se utilizan hembras, ya que los estudios de toxicidad aguda oral e inhalatoria indican que existe poca diferencia en la sensibilidad entre los sexos, pero en aquellos casos en que se observan diferencias, las hembras son generalmente un poco más sensibles. Tal información no está disponible para la vía cutánea, pero se puede suponer que la sensibilidad de sexo es probable que sea similar para esta ruta. Sin embargo, si el conocimiento de las propiedades toxicológicas o toxicocinéticas de sustancias químicas estructuralmente relacionadas indica que los machos tienden a ser más sensibles, este sexo se debe utilizar.

Se utilizan animales adultos jóvenes y sanos. Las hembras deben ser nulíparas y no grávidas. Cada animal, en el comienzo de la prueba, debe tener entre 8 y 12 semanas de edad y su peso debe estar dentro de un intervalo de $\pm 20\%$ del peso corporal promedio registrado en el laboratorio de la especie utilizada.

Ensayo in vivo: Toxicidad aguda por vía dérmica - Guía OECD 402/1987

Descripción del método: Este ensayo proporciona información sobre el peligro para la salud que puede derivarse de la exposición a corto plazo a sustancias químicas sólidas o líquidas por vía cutánea. Al probar sólidos, deberán pulverizarse y humedecerse con agua o, en su caso, con un vehículo adecuado para asegurar un buen contacto con la piel. Cuando se utiliza un vehículo, la

influencia del vehículo en la penetración de la piel debe considerarse. Las sustancias líquidas se utilizan generalmente sin diluir.

Se realiza con roedores como animal de elección (rata, conejo o conejillo de indias puede ser utilizado). Antes del ensayo, los animales son aclimatados a las condiciones del laboratorio y aproximadamente 24 horas antes de la prueba, la piel es afeitada de la zona dorsal del tronco de los animales. Para cada dosis se utilizan al menos 5 animales (del mismo sexo). La sustancia de ensayo debe aplicarse uniformemente sobre un área que es aproximadamente 10 por ciento de la superficie corporal total. Con sustancias altamente tóxicas la superficie cubierta puede ser menor. Las sustancias de ensayo deben mantenerse en contacto con la piel con un apósito de gasa porosa y una cinta adhesiva no irritante durante todo un período de exposición de 24 horas. Al final del período de exposición, la sustancia de ensayo residual debe ser eliminada, cuando sea posible utilizando agua o un disolvente apropiado. La sustancia de ensayo se administra en dosis graduadas a distintos lotes de animales de experimentación, utilizándose una sola dosis por grupo. Se utilizan tres niveles de dosis, espaciadas adecuadamente para producir una curva de dosis-respuesta. El ensayo límite se realiza con dosis de 2000 mg/kg. El período de observación debe ser de 14 días. Debe realizarse necropsia macroscópica de todos los animales ensayados y registrar todos los cambios patológicos brutos. Un estudio de toxicidad aguda por vía cutánea y la determinación de la LD50 dérmica, proporcionan una estimación de la toxicidad relativa de una sustancia por exposición vía cutánea y orienta a la clasificación y el etiquetado de los productos químicos. Es un paso inicial en el establecimiento de un régimen de dosificación en los estudios subcrónicos y otros y puede proporcionar información sobre la adsorción dérmica y el modo de acción tóxica de una sustancia por esta vía.

El ensayo límite se puede considerar cuando se supone baja toxicidad. Se efectúa aplicando una dosis de 2.000 mg/kg o excepcionalmente 5000 mg/kg a un único grupo de cinco machos y cinco hembras. Si se produce mortalidad, se puede considerar el estudio completo.

Los niveles de dosis deben ser en número suficiente, al menos tres, y espaciadas adecuadamente para producir lotes que presenten variedad de efectos tóxicos y de mortalidad. Los datos deben ser suficientes para producir una curva dosis-respuesta y, cuando sea posible, permitir una determinación válida de la DL50.

Toxicidad aguda por vía dérmica: Procedimiento de la dosis fija- Guía OECD 434/2004

Descripción del método: Directrices de la OECD para los ensayos de productos químicos son revisados periódicamente a la luz de los avances científicos y consideraciones de bienestar animal. El ensayo original de toxicidad aguda dérmica directriz TG 402, se adoptó en 1987. El desarrollo de un procedimiento de dosis fijas, ha permitido reducir el número de animales utilizados a través del uso de una serie de dosis fijas para la determinación de la toxicidad dérmica aguda en un solo animal de experimentación (normalmente hembras).

En este ensayo se realiza un estudio preliminar para permitir la selección de la dosis inicial adecuada para el estudio principal. La dosis inicial para el estudio preliminar se selecciona de los niveles de dosis fijas de 50, 200, 1000 y 2000 mg/kg, como la dosis esperada para producir algunos signos de toxicidad sin causar efectos tóxicos graves o mortalidad. En ausencia de tal información, la dosis

inicial será de 1000 mg/kg. El intervalo de tiempo entre la administración de dosis a cada animal es de al menos 24 horas. Todos los animales deben ser observados durante al menos 14 días.

En los casos en que se prueba la dosis fija más baja (50 mg/kg) y el animal muere o exhibe claros signos clínicos de toxicidad, el procedimiento normal es terminar el estudio y asignar a la sustancia Categoría GHS 1. Sin embargo, si se requiere confirmación adicional de la clasificación, un procedimiento complementario opcional puede llevarse a cabo y así un segundo animal se dosificará a 50 mg/kg. Si este segundo animal muere, entonces Categoría GHS 1 será confirmada y el estudio se dará por terminado. Si el segundo animal sobrevive, a continuación, se dosificará un máximo de 3 animales adicionales con 50 mg/kg. Debido a que habrá un alto riesgo de muerte, estos animales deben ser dosificados de manera secuencial para proteger su bienestar. Si se produce una segunda muerte, la secuencia de dosificación se dará por terminada inmediatamente y su clasificación será Categoría GHS será 1.

En el estudio principal se utilizan un total de cinco animales del mismo sexo para cada nivel de dosis investigado. El intervalo de tiempo entre la dosificación en cada nivel está determinado por la aparición, duración y gravedad de los signos tóxicos. El período de exposición a la sustancia química es de 24 horas, luego es removida. La exposición de los animales en la siguiente dosis debe retrasarse hasta que haya seguridad de la supervivencia de los animales previamente tratados. Se recomienda un periodo de 3 o 4 días entre dosis en cada nivel para permitir la observación de toxicidad tardía.

El ensayo límite se aplica cuando el experimentador supone una baja toxicidad. Se efectúa aplicando una dosis de 2.000 mg/Kg o excepcionalmente 5.000 mg/Kg a 1 animal. Si el animal muere se realiza el ensayo completo, pero si fallece se confirma la baja toxicidad usando secuencialmente cuatro animales en este mismo nivel de dosis.

Los animales deben ser observados clínicamente con frecuencia durante el período de exposición. Después de la exposición, las observaciones clínicas deben realizarse al menos dos veces en el día, durante 14 días. El período de observación no es fijo, sino que debe ser determinado por la naturaleza y el tiempo de aparición de los signos clínicos y la duración del período de recuperación.

A todos los animales del ensayo, incluidos los que mueren durante la prueba o los sometidos a eutanasia, se les realiza una necropsia macroscópica. Todos los cambios patológicos brutos deben ser registrados para cada. Se pueden considerar exámenes adicionales, incluyendo el análisis microscópico, para extender el valor interpretativo del estudio.

Ensayos de Irritación/Corrosión

Se define como *efecto irritante* a los cambios reversibles que se observan sobre la piel y mucosas, luego de la aplicación de una sustancia química a un animal de experimentación. Los efectos tanto dérmicos como oculares se evalúan en conejos, comenzando siempre por los dérmicos. Los ensayos se deben realizar en conejos albinos, adultos y sanos, con un número aconsejable de tres por lote. Las condiciones de mantenimiento son las mismas que en todos los estudios de toxicidad aguda, pero en estos se deben someter a los animales a un estudio profundo de los ojos y desechar a los que presenten alguna alteración en cornea o conjuntiva. Por su parte, el *efecto corrosivo* es la destrucción irreversible de los tejidos después de la aplicación de una sustancia química. Las reacciones corrosivas in vivo, se caracterizan por úlceras, sangrado, escaras sangrantes, decoloración de la piel, zonas completas de alopecia y cicatrices.

La UE y la OECD establecen una **Estrategias de Evaluación Secuencial** para evaluar efecto de sustancias químicas corrosivas e irritantes severos sobre de piel y ojos. La estrategia de pruebas fue adoptada en el 2002 y consiste en un protocolo secuencial de análisis de antecedentes, con el propósito de minimizar el uso de animales de experimentación. Si en un paso determinado no se llega a una conclusión, se considera el siguiente paso de la estrategia.

Estos pasos secuencialmente son:

1. Evaluar la existencia de datos de irritación/corrosión en humanos y/o animales: Se originan a partir de estudios clínicos y ocupacionales, de datos de centros de información toxicológica, informes de casos clínicos, estudios epidemiológicos retrospectivos y si es posible evidencia de datos de Test de Parches en humanos (HPT).
2. Utilizar modelos matemáticos de predicción de sustancias químicas: Modelo Relación de Estructura-Actividad (Q) SAR Toolbox: La inclusión de un sistema predictivo de relación estructura actividad en la primera etapa simplifica en gran medida el procedimiento.
3. Evaluación propiedades físico químicas: pH de la sustancias química de estudio: Las sustancias químicas fuertemente alcalinas ($\text{pH} \geq 11,5$) o ácidas ($\text{pH} \leq 2$), no deben someterse a estudios cutáneos, puesto que esta propiedad es suficiente para clasificar a la sustancia en estudio como corrosiva.
4. Evaluar antecedentes de toxicidad sistémica por vía dérmica.
5. Evaluar corrosión cutánea *in vitro*, con ensayos validados.
6. Evaluar Irritación cutánea *in vitro*, con ensayos validados.
7. Ensayo confirmatorio *in vivo*, si se obtiene un resultado negativo en el ensayo *in vitro* de irritación de la piel. (OECD 404).

En marzo de 2010, se aprobó una propuesta de proyecto de Alemania para desarrollar un documento de orientación (GD) para un enfoque integrado sobre Pruebas y Evaluación (IATA) de la corrosión e irritación cutánea. Una primera reunión de consulta de expertos (ECM) se celebró en Berlín en Octubre de 2010. El objetivo general de la primera reunión fue preparar el desarrollo de

un GD para un IATA y trabajar en recomendaciones para revisar, eliminar o combinar los ensayos de irritación/corrosión de la piel existente de la OECD TG 404, 430, 431, 435 y 439. Este esfuerzo inicial se ha seguido de Reuniones de Consulta de Expertos posteriores en el año 2012 y 2013. El objetivo general de la GD es establecer un IATA para la identificación del peligro de corrosión cutánea o irritación potencial de los productos químicos (o falta de ella) que proporciona información adecuada para la clasificación y etiquetado de acuerdo con el Sistema Globalmente Armonizado de las Naciones Unidas (ONU GHS).

Corrosividad in vitro: Resistencia Eléctrica Transcutánea (TER)-Guía OCDE 430/2015

Descripción del método: Este método fue adoptado por primera vez el 13 de abril del 2004 y fue revisado posteriormente en el año 2013 y luego en el 2015. Se basa en el método de la Resistencia eléctrica transcutánea (TER), que utiliza discos de piel de rata para identificar agentes corrosivos por su capacidad para producir una pérdida de la integridad del estrato córneo normal y la función de barrera de la piel. Este ensayo fue aprobado por la OECD inicialmente en el año 2004 y actualizado el año 2015.

Varios estudios publicados han informado que el método de ensayo TER en piel de rata es capaz de discriminar entre corrosivos cutáneos conocidos y no corrosivos con una sensibilidad global del 94% y una especificidad del 71%. Este ensayo permite la identificación de sustancias químicas corrosivas y no-corrosivas de acuerdo con el GHS de la ONU. Discrimina corrosivos cutáneos (Cat. 1) de los no corrosivos, pero no sub-categorías 1A, 1B y 1C. Es aplicable a una amplia gama de clases químicas y estados físicos incluyendo líquidos, semisólidos, sólidos y ceras.

La Resistencia Eléctrica Transcutánea (TER): es una medida de la impedancia eléctrica de la piel, valor de la resistencia expresada en kilo ohms (k Ω). Es un método simple y robusto de la evaluación de la función de la barrera cutánea, mediante el registro del paso de iones a través de la piel, usando como instrumento de medición un puente de Wheatstone.

El material de ensayo se aplica durante un máximo de 24 horas sobre la epidermis de discos cutáneos, que son extraídos desde piel de rata, en un sistema de prueba bicompartimental, en que los discos cutáneos separan los compartimentos. Productos químicos corrosivos se identifican por su capacidad de producir una pérdida de la integridad del estrato córneo y de la función normal de la barrera de la piel, que se mide como una reducción en la TER debajo de un nivel umbral. Para la TER de piel de rata, el valor de corte es de 5k Ω . En general, los productos químicos de prueba que son no corrosivos en los animales, pero que son irritantes o no irritantes no reducen el TER por debajo de este valor de corte. Una etapa de fijación de colorante se incorpora en el procedimiento para confirmación de los resultados positivos de la TER incluyendo valores alrededor de 5k Ω . El paso del colorante determina si el aumento de la permeabilidad iónica, es debido a la destrucción física de la capa córnea. El método TER en piel de rata, ha demostrado ser predictivo de corrosividad in vivo en conejo.

Procedimiento: En este ensayo, se utilizan ratas, ya que la sensibilidad de su piel ha sido demostrada y validada previamente. Los animales deben ser afeitados y sometidos a un lavado de la piel, posteriormente son tratados con antibióticos durante los 4-6 días antes de que el animal sea sacrificado para la prueba.

Preparación de los discos cutáneos: Las ratas son sacrificadas en condiciones benevolentes a los 28-30 días de edad. Luego se retira la piel dorso-lateral de cada animal y se despoja del exceso de grasa subcutánea. Se obtiene 10 a 15 discos de la piel de 1 rata, de 20 mm de diámetro. Cada disco de piel se coloca sobre uno de los extremos de un tubo de PTFE (politetrafluoroetileno), asegurando que la superficie epidérmica esté en contacto con el tubo. Un anillo "O" de caucho se coloca a presión sobre el extremo del tubo para mantener la piel en el lugar y el exceso de tejido se recorta. El anillo "O" de caucho es cuidadosamente sellado al extremo del tubo de PTFE con vaselina. El tubo es soportado por una abrazadera de resorte dentro de una cámara receptora que contiene solución de MgSO₄ (154 mM). El disco de piel debe ser sumergido totalmente en la solución de MgSO₄.

Antes de comenzar el ensayo, se debe medir el TER a los discos cutáneos como un procedimiento de control de calidad. Ambos discos deben dar valores de resistencia eléctrica superior a 10 kΩ.

Aplicación de la sustancia química de prueba y de control: Controles positivos y negativos deben utilizarse en cada ensayo para asegurar un rendimiento adecuado del modelo experimental. Discos de la piel de un solo animal deben ser utilizados en cada serie. Los productos químicos de ensayo de control positivo y negativo sugeridos son el ácido clorhídrico 10M y agua destilada, respectivamente.

Sustancias químicas líquidas (150 µL) se aplican de manera uniforme en la superficie epidérmica dentro del tubo. Al probar materiales sólidos, se aplica una cantidad suficiente del sólido de manera uniforme en el disco para asegurar que toda la superficie de la epidermis quede cubierto y luego se añade agua desionizada (150 µL) en la parte superior del sólido y el tubo se agita suavemente. A fin de lograr el máximo contacto con la piel, pueden necesitar calentar el sólido a 30°C para fundir o ablandar la sustancia de ensayo.

Tres discos de piel se utilizan para cada prueba y control. Las sustancias de ensayo se aplican durante 24 horas a temperatura de 20 a 23° C. Posteriormente, se elimina mediante lavado con un chorro de agua del grifo a temperatura ambiente.

Tabla 69: Evaluación de resultados TG 430

La sustancia de ensayo se considera no corrosivo para la piel si:
a) El valor medio de la TER obtenido para la sustancia de ensayo es superior a 5 kΩ.
b) El valor medio de la TER es inferior o igual a 5 kΩ y el disco de piel de ensayo no muestra daños evidentes, y el contenido medio de colorante en el disco es muy inferior al contenido de colorante en el disco del control positivo con HCl 10M obtenido en forma paralela.
La sustancia de ensayo se considera corrosivo para la piel si:
a) El valor medio de la TER es inferior o igual a 5 kΩ y el disco de la piel se deteriora.
b) El valor medio de la TER es inferior o igual a 5kΩ, y el disco de la piel no muestra daño evidente, pero el contenido medio de colorante en el disco es mayor o igual al contenido de colorante en el disco del control positivo de HCl 10M obtenido en forma paralela.

Una corrida de ensayos con el compuesto de prueba y por al menos tres discos cutáneos de replicadas, son suficiente para la clasificación inequívoca de la sustancia. Sin embargo, en los casos en que el resultado sea dudoso, tales mediciones no concordantes y/o TER igual a 5kΩ, deben ser repetidas

Tabla 70: Fortalezas, debilidades y limitaciones TG 430

Fortalezas del ensayo TG 430:
a) Método de ensayo oficialmente validado.
b) Mecanismo de acción diferente al resto de las pruebas in vitro, por lo tanto, puede ser valioso para complementar la evidencia de los resultados de estas pruebas. Cabe señalar, sin embargo, que los tres ensayos <i>in vitro</i> de corrosión cutánea OECD TG (430, 431 y 435) se consideran pruebas independientes que permiten la detección o exclusión de los efectos corrosivos y la clasificación de las sustancias químicas.
Debilidades del ensayo TG 430:
a) Puede ser considerado como un experimento con animales in vivo en algunos países debido a la necesidad de afeitarse, lavar y tratar a los animales con antibióticos durante los 4-6 días antes de que el animal sea sacrificado para la prueba.
b) Los animales son sacrificados con el fin de la prueba.
c) El valor de corte TER para predecir la corrosión cutánea varía con la edad y la tensión de la piel de las ratas.
d) No es válido para gases y aerosoles.
Limitaciones del ensayo TG 430:
a) Sólo permite la clasificación de productos químicos identificados como corrosivos en GHS categoría 1 y no sub-categorías 1A, 1B y 1C.
b) No permite discriminar los irritantes de la piel (GHS Categoría 2).

Corrosividad in vitro: Modelo de la epidermis humana reconstituida (RHE)-Guía OECD 431/2015

Descripción del método: Este ensayo se adoptó por primera vez el 13 de abril 2004, junto con la OECD 430 y fue revisada posteriormente en el año 2013 y 2015. La guía original comprendía dos modelos RHE validados (EpiSkin™ y EpiDerm). En la revisión en el año 2013 se mejoró el rendimiento de ambos ensayos, se logró incorporar subcategorías para la clasificación GHS de los corrosivos: Sub-categoría 1A, 1B y 1C. Además, se incluyeron otros dos modelos RHE (SkinEthic™ RHE y epidérmico de la piel de prueba epiCS®), así como una visión general en las diferencias metodológicas para cada uno de los cuatro modelos validados y aceptados de RHE.

Cuatro métodos de prueba validados, utilizando el modelo RHE se encuentran disponibles comercialmente: **1) EpiSkin™ Modelo Estándar (SM)** y **2) EpiDerm™ Skin Prueba Corrosividad (SCT) (EPI-200)** son considerados los ensayos de referencia validados (VRM), ambos métodos son utilizados con fines regulatorios para distinguir entre sustancias corrosivo (C) de sustancias no corrosivas (NC), y que el EpiSkin™ además podría utilizarse para apoyar sub-categorización GHS de sustancias de corrosivos. Existen otros dos ensayos in vitro para evaluar corrosión cutánea en el mercado que utiliza el métodos RHE que han demostrado resultados similares a la EpiDerm™ y estos son: **3) SkinEthic™ RHE1** y **4) epiCS®** (anteriormente llamado EST-1000).

La guía OECD 431 se basa en epidermis humana reconstruida (RHE), que en su diseño general (cultivo análogo de piel humana, derivado de queratinocitos no transformados como fuente de células y de tejido representativo y citoarquitectura) que imitan las propiedades bioquímicas y fisiológicas de la parte superior de la piel humana, es decir, la epidermis. Los modelos RHE se construyen mediante el cultivo de los queratinocitos en la interfase aire-líquido para formar un modelo de múltiples capas, altamente diferenciado de la epidermis humana. Se compone de capas

organizadas: basal, espinosas y granulares, y múltiples capas de estrato córneo que contiene capas laminares de lípidos intercelulares que representan principales clases de lípidos análogos a los encontrados *in vivo*.

Las sustancias de ensayo se aplican tópicamente a los modelos RHE tridimensionales, por periodos de exposición de 3 min y 1 hora en todos los métodos de ensayo RHE y también durante 4 horas en el método de ensayo EpiSkin™. La viabilidad celular se mide inmediatamente después de la exposición química, mediante la conversión enzimática vía deshidrogenasa del colorante MTT [Bromuro de 3-(4,5- dimetiliazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol, número CAS 298-93-1], en una sal formazan de color azul, que se mide cuantitativamente después de la extracción de los tejidos. Los productos químicos corrosivos se identifican por su capacidad para disminuir la viabilidad celular debajo de los niveles umbral definido.

Los métodos de ensayo RHE se basan en la premisa de que los productos químicos corrosivos son capaces de penetrar el estrato córneo por difusión o erosión, y son citotóxicas para las células en las capas subyacentes. La viabilidad celular se mide mediante el ensayo de MTT inmediatamente después de la exposición.

Los métodos RHE discriminan entre corrosivos cutáneos (Cat. 1) y no corrosivos. El método EpiSkin™ es aceptado para distinguir sub-categorías de corrosivos 1A, 1B y 1C, mientras que los otros tres métodos (EpiDerm, SkinEthic RHE y epiCS®) se aceptan actualmente para identificar únicamente Subcategorías de corrosivos 1B y 1C.

El ensayo 431 es aplicable tanto a las sustancias puras como a las mezclas, aunque existe información limitada de ensayos con mezclas. Es aplicable a una amplia gama de clases químicas y estados físicos que incluyen líquidos, sólidos, semisólidos y ceras. Los líquidos pueden ser acuosos o no acuosos; los sólidos pueden ser solubles o insolubles en agua. Sin embargo, no es aplicable a gases y aerosoles.

Capacidad predictiva del método: Para la predicción de Categoría 1 GHS. Se observa una sensibilidad > 95%, una especificidad del > 70% y una precisión del 82,5%.

Para Sub-categorías 1A, 1B y 1C del GHS de los productos químicos no corrosivos similares al método de ensayo EpiSkin™, se recomienda la siguiente capacidad predictiva como requisito mínimo para los modelos RHE futuros:

- Sensibilidad (Corrosivos vs No Corrosivos): $\geq 95\%$
- 1A Correctamente clasificadas: $\geq 80\%$
- 1A Sub-clasificada 1B-y-1C: $\leq 20\%$
- 1A Sub-clasificada No Corrosivo: 0%
- Clasificadas correctamente 1B-y-1C: $\geq 80\%$
- 1B y 1C Sobre-clasificado 1A: $\leq 20\%$
- 1B y 1C Sub-clasificada No Corrosivas: $\leq 5\%$
- Especificidad: $\geq 70\%$
- No Corrosivo Sobre-clasificado 1A $\leq 5\%$
- No Corrosivo Sobre-clasificado 1B y 1C $\leq 30\%$
- Precisión (Corrosivo vs No Corrosivo): $\geq 87\%$
- Precisión (1A vs 1B y 1C vs No Corrosivo): $\geq 78\%$

Tabla 71: Fortalezas, debilidades y limitaciones TG 431

Fortalezas del método RHE TG 431
1) Método de ensayo oficialmente validado
2) Modelo de tejido 3D basado en humano
3) Varios modelos equivalentes disponibles en el mercado
4) Parcial sub-categorización posible (Categoría 1A frente a categoría 1B y 1C).
Debilidades del método RHE TG 431
1) Prueba con productos químicos que actúan directamente sobre MTT que son naturalmente coloreados, o llegar a ser de color durante el tratamiento del tejido necesita el uso de controles adaptados como se describe en la guía OCDE TG431.
2) Este ensayo no es válido para gases y aerosoles
3) Métodos de ensayo incluidos en la OCDE TG 431 son capaces de sobre-clasificar entre corrosivos con una tasa variable dependiendo del método.
Limitaciones del método RHE TG 431:
1) No discrimina a los irritantes de la piel (Cat. 2) de los productos químicos que no requieren clasificación para irritación/corrosión de la piel, ya que se identifican como no corrosivos.

Corrosividad in vitro: Método de la membrana barrera- Guía OECD 435/2015

Descripción del método: Este ensayo se adoptó el 19 de julio de 2006 y se adaptó en el año 2015 y fue el tercer método de ensayo *in vitro* de corrosión cutánea.

El sistema de prueba posee dos componentes, una biobarrera macromolecular sintética y un sistema de detección química de compuestos coloreados sensibles al pH; la base de este método de ensayo es que detecta daños en la barrera de la membrana causado por sustancias químicas corrosivas, después de la aplicación de ella en la superficie de la barrera de membrana artificial, presumiblemente por el mismo mecanismo de corrosión que produce sobre la piel viva. La penetración en la barrera de la membrana se puede medir mediante una serie de procedimientos, incluyendo un cambio en el color del químico coloreado indicador de pH o de alguna otra característica de la solución indicadora debajo de la barrera.

Este ensayo se utiliza para clasificar sustancias químicas no corrosivas y corrosivas de la piel, además de subcategorías de clasificación 1A, 1B y 1C. Es aplicable a diferentes clases específicas de productos químicos como ácidos orgánicos e inorgánicos, derivados de ácidos y bases. Se puede utilizar tanto en sustancia químicas puras, como en mezclas incluyendo diluciones, formulaciones y/o residuos, ya sean sólidos (solubles o insolubles en agua), líquidos (acuosos y no acuosos) y emulsiones. Sin embargo, no es aplicable a los gases y aerosoles.

El método validado disponible comercialmente es el conocido como CORROSITEX[®], mostrando una precisión global para predecir corrosión cutánea de 79%, una sensibilidad de 85% y una especificidad del 70%. Sobre la base de su validez reconocida, este método de prueba de referencia validado (VRM) ha sido recomendado para su uso como parte de una estrategia de evaluación secuencial para evaluar el riesgo potencial de corrosión cutánea de sustancias químicas.

Tabla 72: Fortalezas, debilidades y limitaciones TG 435

Fortalezas TG 435:
1) Método de ensayo oficialmente validado.
2) Permite la sub-categorización 1A, 1B y 1C.
3) Método simple de ensayo.
Debilidades TG 435:
1) No es aplicable a sustancias químicas con rangos del pH ente 4,5 a 8,5, porque estos pH no son detectados por el sistema de detección químico (CDS) utilizado para detectar el paso de productos químicos a través de la bio-barrera, el 58% de las sustancias químicas no son compatible con el sistema de detección química.
2) No contiene componentes celulares, pero detecta de forma fiable la corrosión cutánea basada en mecanismos bioquímicos.
3) En algunos casos, los cambios de color pueden ser transitorios y difícil de interpretar.
4) No es aplicable para gases y aerosoles-
Limitaciones del ensayo TG 435:
1) Aplicable solo a clases específicas de productos químicos como ácidos orgánicos e inorgánicos, derivados de ácidos y bases.
2) OCDE TG 435 no discrimina irritantes de la piel Categoría 2 de los productos químicos que no requieren clasificación para irritación/corrosión de la piel.

Irritación In vitro: Modelo de la epidermis humana reconstituida (RHE)-Guía OECD 439/2013

Descripción del método: Este ensayo se adoptó el 22 julio 2010 comprende tres modelos RHE validados (**EpiSkinTM**, **EpiDerm** y **SkinEthicTM RHE**). Constituye el primer ensayo *in vitro* de la irritación cutánea. Una versión revisada fue adoptada el 26 de julio de 2013, que comprende un cuarto modelo validado RHE (**Labcyte EPI-MODEL24**), así como una visión general de las diferencias metodológicas para cada uno de los cuatro métodos validados y aceptados RHE.

La guía OECD 439 se basa en epidermis humana reconstruida (RHE), que en su diseño general (cultivo análogo de piel humana, derivado de queratinocitos no transformados como fuente de células y de tejido representativo y citoarquitectura) que imitan las propiedades bioquímicas y fisiológicas de la parte superior de la piel humana, es decir, la epidermis. Los modelos RHE se construyen mediante el cultivo de los queratinocitos en la interfase aire-líquido para formar un modelo de múltiples capas, altamente diferenciado de la epidermis humana. Se compone de capas organizadas: basal, espinosas y granulares, y un múltiples capas de estrato córneo que contiene capas laminares de lípidos intercelulares que representan principales clases de lípidos análogos a los encontrados *in vivo*. Las sustancias de ensayo se aplican por vía tópica a los modelos RHE tridimensionales, durante un periodo de exposición de 15 min a EpiSkinTM y Labcyte EPI-MODEL24, por 42 min a SkinEthicTM RHE y durante 60 minutos a EpiDerm. La viabilidad celular se mide inmediatamente después de la exposición química, mediante la conversión enzimática vía deshidrogenasa del colorante MTT [Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol, número CAS 298-93-1], en una sal formazan de color azul, que se mide cuantitativamente después de la extracción de los tejidos. Sustancias químicas Irritantes se identifican por su capacidad para disminuir la viabilidad del tejido por debajo del 50% del control negativo.

Este ensayo discrimina irritantes de la piel en categoría 2 de productos químicos no irritantes. No está diseñado para los productos químicos en clasificación GHS Categoría 3. Los métodos de ensayo basados en RHE se pueden utilizar como métodos de ensayo de reemplazo. Es aplicable a sustancias puras y mezclas. A sólidos, líquidos, semisólidos y ceras. Los líquidos pueden ser acuosos o no

acuosos; los sólidos pueden ser solubles o insolubles en agua. Sin embargo, no es aplicable a los ensayos con gases y aerosoles.

Capacidad predictiva:

- Para la predicción de clasificación GHS Categoría 2 vs sin categoría de irritación
- Sensibilidad $\geq 80\%$
- Especificidad $\geq 70\%$
- Precisión $\geq 75\%$

Estos son los requisitos mínimos solicitados para los futuros modelos RHE.

Tabla 73: Fortalezas, debilidades y limitaciones TG 439

Fortalezas del ensayo TG 439:
1) Método de ensayo validado oficialmente de ensayo.
2) Modelo de tejido 3D basado en humano.
3) Varios modelos equivalentes comercialmente disponibles.
4) Aceptado para la clasificación GHS Categoría 2 frente a no clasificación
Debilidades TG 439:
1) Prueba con productos químicos que actúan directamente sobre MTT que son naturalmente coloreado, o llegar a ser de color durante el tratamiento del tejido necesita el uso de controles adaptados
2) Este ensayo no es válido para gases y aerosoles
Limitaciones TG 439:
1) No está diseñado para clasificar productos químicos para la opción GHS Categoría 3 (irritantes suave). Sin embargo, en los países que no adopten esta categoría opcional, los métodos de ensayo basados en RHE se pueden utilizar como una irritación de la piel métodos de ensayo de reemplazo.
2) No proporciona información suficiente sobre la corrosión cutánea

Toxicidad aguda: Irritación/corrosión dérmica -Guía OECD 404/2015

Descripción del método: Este ensayo *in vivo* se realiza en conejos albinos, pues la piel de este animal es más sensible que la piel humana.

Se basa en una prueba desarrollada en el año 1981 por Draize para evaluación de toxicidad sistémica y local en piel y mucosas. Ha sido revisado en tres oportunidades, primero en el año 1992, 2002 y el año 2015.

Este ensayo evalúa la reacción celular asociada al trauma del tejido con respuesta inflamatoria producida por el estímulo nocivo de sustancias químicas irritantes/corrosivas sobre la piel y mucosas. El daño celular en los tejidos conduce a la liberación de mediadores de la inflamación, estimulación nerviosa, dolor y comezón. La respuesta inflamatoria última conduce a fenómenos observables tales como inflamación local de la piel (edema) y enrojecimiento (eritema).

Se puede aplicar a una amplia gama de productos químicos (sustancias puras y mezclas). Los tintes y otros productos químicos de color pueden afectar el resultado de los efectos, sobre todo el eritema. Del mismo modo, las propiedades físico-químicas tales como la volatilidad pueden reducir considerablemente la cantidad de producto químico en contacto con la piel. No es aplicable para gases y aerosoles.

Este ensayo in vivo no debe llevarse a cabo hasta que todos los datos disponibles correspondientes al potencial corrosión/irritación cutánea de la sustancia problema se han evaluado, siguiendo el esquema de la Estrategias de Evaluación Secuencial de la OECD, con un análisis de peso de la evidencia [weight-of-the-evidence (WoE)]. Si la evaluación de todos los pasos de esta estrategia secuencial no son concluyentes, entonces se realiza la prueba in vivo.

Aproximadamente 24 horas antes de la prueba, la piel debe ser removida en la zona dorsal del tronco de los animales. Se debe tener cuidado para evitar la abrasión de la piel, y sólo los animales con piel sana e intacta se deben utilizar. Algunas cepas de conejos tienen parches densos de pelo que son más prominentes en ciertas épocas del año. Tales áreas de crecimiento del pelo denso no deben ser utilizadas como sitios de prueba. La sustancia de ensayo debe ser aplicada a un animal un área pequeña (aproximadamente 6 cm²) de la piel y se cubre con un parche de gasa, que se mantiene en su lugar con cinta no irritante. El nivel de dosis aplicado a cada animal es de 0,5 ml para líquidos o 0,5 g para sólidos. El parche debe mantenerse holgadamente en contacto con la piel durante el período de exposición. Las sustancias químicas líquidas se utilizan generalmente sin diluir. Al probar sólidos (que puede ser pulverizado, si se considera necesario), la sustancia de ensayo debe ser humedecida con la menor cantidad de agua (u otro vehículo adecuado), debe ser suficiente para asegurar un buen contacto con la piel. Cuando se utilizan vehículos distintos del agua, la influencia potencial del vehículo en la irritación de la piel por la sustancia de ensayo debe ser considerada. Al finalizar del período de exposición, que es normalmente de 4 horas, la sustancia problema residual debe eliminarse, con agua u otro disolvente adecuado que no altere la respuesta ni la integridad de la epidermis.

Ensayo de confirmación: Si un efecto corrosivo no se observa en la prueba inicial, debe ser confirmado con un máximo de dos animales más, cada uno con un parche, para un período de exposición de cuatro horas. Si se observa un efecto irritante en la prueba inicial, la prueba de confirmación debe hacerse de una manera secuencial, o exponiendo dos animales a la vez. En el caso excepcional, en el que no se lleva a cabo la prueba inicial, dos o tres animales pueden ser tratados con un solo parche, que se retira después de cuatro horas. Cuando se utilizan dos animales, si ambos exhiben la misma respuesta, no es necesario realizar más pruebas.

La duración del período de observación debe ser suficiente para evaluar por completo la reversibilidad de los efectos observados. Sin embargo, el experimento debe ser terminado en cualquier momento, si el animal muestra continuos signos de dolor o sufrimiento. Para determinar la reversibilidad de los efectos, los animales deben ser observados hasta 14 días después de la eliminación de los parches. Si se observa la irreversibilidad antes de 14 días, el experimento debe concluir en ese momento.

Observaciones clínicas y graduación de las reacciones cutáneas: Todos los animales deben ser examinados para detectar signos de eritema y edema. Los registros de respuestas se realizan a los 60 minutos, y luego a los 24, 48 y 72 horas después de la retirada del parche. Si hay daño a la piel que no puede ser identificado como irritación o corrosión a las 72 horas, pueden ser necesarias observaciones hasta el día 14 para determinar la reversibilidad de los efectos.

Además de la observación de la irritación, efectos tóxicos locales, como desgrase de la piel, y efectos adversos sistémicos deben ser descritos y registrados en su totalidad. El examen histopatológico se debe considerar para precisar las respuestas dudosas.

La clasificación de las respuestas de la piel es necesariamente subjetiva. Para promover la armonización en la clasificación de la respuesta de la piel y ayudar a los laboratorios de ensayo a la interpretación de las observaciones, el personal que realiza las observaciones debe ser adecuadamente entrenado en el sistema de puntuación utilizado.

Tabla 74: Puntuación de reacciones a la piel TG 404

FORMACIÓN DE ERITEMA Y ESCARAS	
SIGNO CLÍNICO EVALUADO	PUNTUACIÓN
Sin eritema	0
Muy ligero eritema (apenas perceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado a severo	3
Eritema grave	4
FORMACIÓN DE EDEMA	
SIGNO CLÍNICO EVALUADO	PUNTUACIÓN
Sin edema	0
Muy ligero edema (apenas perceptible)	1
Edema leve (bordes del área bien definidos por elevación definitiva)	2
Edema moderado (aproximadamente 1 mm)	3
Edema grave (más de 1 mm y se extiende más allá del área de exposición)	4

Tabla 75: Fortalezas, debilidades y limitaciones TG 404

Fortalezas del ensayo TG 404:
1) Se puede observar reversibilidad de los efectos.
2) Refleja todos los posibles modos de acción de irritante de la piel y reacciones corrosivas presente en la piel de conejo.
3) Clasificación de la irritación/corrosión completa, es decir, sin categoría, categoría 3, categoría 2, Sub-categoría 1C, Sub-categoría 1B o Sub-categoría 1ª.
Debilidades y/o limitaciones del ensayo TG 404:
1) Experimentación con animales, que potencialmente pueden implicar sufrimiento, por la acción corrosiva o las reacciones inflamatorias.
2) Al estar realizado en un modelo en conejos, puede hacer predicciones incorrectas debido a la variabilidad de respuestas entre especies.

3) El afeitado de la piel del animal puede causar abrasiones menores y facilitar la penetración de la sustancia química estudiada.
4) La puntuación puede ser subjetiva y alterar la reproducibilidad del ensayo
5) Los tintes y otros productos químicos de color, pueden perjudicar el marcador de los efectos, especialmente el eritema.
6) No es aplicable a la prueba de gases y aerosoles.

Tabla 76: Comparación Ensayo OCDE TG 404/US-EPA 870.2500

PARÁMETRO EVALUADO	OCDE TG 404	US-EPA OPPTS 870.2500
Período de Exposición	4 horas	3 minutos 1 horas 4 horas
Especie Seleccionada	Conejos albinos	Conejos
Edad	8 a 12 semanas de edad	8 a 12 semanas de edad
NO de animales por grupo	5 animales mismo sexo por prueba	3 animales (en 3 diferentes intervalos de tiempo), 2 animales adicionales si no se observa efectos después de una exposición a 4 horas
Niveles de dosis	0,5 ml para líquidos o 0,5 gr. para sólidos	0,5 ml para líquidos o 0,5 gr. para sólidos
Dosis prueba límite	-	2000 mg/kg
Administración de sustancia química	La sustancia de ensayo debe ser aplicada en un área pequeña (aproximadamente 6 cm ²) de la piel y se cubre con un parche de gasa.	La sustancia de ensayo debe ser aplicada en un área pequeña (aproximadamente 6 cm ²) de piel y cubierto con un parche de gasa.
Periodo de observación	14 días	14 días
Observaciones clínicas	Se realizan a los 60 minutos, y luego a los 24, 48 y 72 horas después de la retirada del parche y luego al menos una vez al día.	30-60 minutos, y a las 24, 48, y 72 horas después de la remoción del parche y luego al menos 1 vez al día.

Toxicidad aguda: Ensayo in vivo: Irritación/corrosión ocular- Guía OECD 405/2012

Descripción del método: Este ensayo proporciona información sobre los peligros a la salud que puedan derivarse de la exposición a una sustancia química de ensayo (líquidos, sólidos y aerosoles) tras la aplicación ocular. Se utilizan conejos albinos como especie de elección. La sustancia de ensayo se aplica en una sola dosis en el saco conjuntival en un ojo de cada animal. El otro ojo, que permanece sin tratar, se utiliza como control. Los ojos de los animales de laboratorio son lavados 24 horas después de la instilación de la sustancia de ensayo para remover los residuos, con excepción de los sólidos y en caso de efectos corrosivos o irritantes inmediatos.

La prueba inicial utiliza un animal; el nivel de dosis dependerá de la naturaleza de la sustancia de ensayo. Debería hacerse una prueba de confirmación si el efecto corrosivo o irritante no se observa en la prueba inicial, con un máximo de dos animales más en forma secuencial. La duración del período de observación debe ser suficiente para evaluar plenamente la magnitud y la reversibilidad

de los efectos observados. El grado de irritación y corrosión de los ojos se evalúa al examinar las lesiones de la conjuntiva, córnea y el iris, a intervalos específicos de tiempo (1, 24, 48, y 72 horas después de la aplicación de la sustancia de ensayo). Otros efectos adversos tanto en el ojo como a nivel sistémicos que se observen deben ser informados para proporcionar una evaluación completa. Las puntuaciones de la irritación ocular deben ser evaluadas en relación con la naturaleza y gravedad de las lesiones y la reversibilidad o irreversibilidad de los efectos. El uso de pre-tratamiento con analgésicos sistémicos y la inducción de anestesia tópica adecuada, se utiliza para evitar o minimizar el dolor y la angustia de los animales durante el procedimiento. La duración del estudio debe ser suficiente para evaluar la reversibilidad o irreversibilidad de los efectos.

Al igual que en el resto de los ensayos de toxicidad aguda, los animales que presenten signos sufrimiento y/o dolor intenso en cualquier etapa de la prueba, deberán ser sacrificados en forma benevolente y ser considerados en los resultados al igual que los animales que murieron durante la prueba.

Los dos ojos de cada animal seleccionado para el ensayo, deben ser examinados rigurosamente dentro de las 24 horas antes de que comience la prueba. Los animales que muestren irritación ocular, defectos oculares o lesión corneal preexistente serán descartados del estudio.

Uso de anestésicos tópicos y analgésicos sistémicos: 60 minutos antes del ensayo se administra buprenorfina 0,01 mg/kg por inyección subcutánea (SC) para proporcionar un nivel terapéutico de analgesia sistémica y 5 minutos antes se administra 1 o 2 gotas de un anestésico tópico ocular (proparacaína o tetracaína al 0,5%) se aplican a cada ojo. Ocho horas después de exposición a la sustancia química se administra buprenorfina 0,01 mg/kg y meloxicam 0.5 mg/kg ambos por vía SC para proporcionar un nivel terapéutico continuo de analgesia sistémica, luego se administra buprenorfina 0,01 mg/kg vía SC cada 12 horas, en combinación con meloxicam 0.5 mg/kg vía SC cada 24 horas, hasta que las lesiones oculares se resuelven y no hay signos clínicos de dolor y angustia.

Tabla 77: Dosificación TG 405

DOSIFICACIÓN	
Líquidos	0,1 ml.
Sólidos, pastas y partículas	La cantidad utilizada debe tener un volumen de 0,1 ml o un peso de no más de 100 mg. El material de ensayo debe ser molido a un polvo fino y posterior a 1 hora después de la aplicación, el ojo debe ser enjuagado con solución salina o agua destilada.
Aerosoles	Se administra a los ojos en forma de ráfaga por aproximadamente un segundo, desde una distancia de 10 cm directamente delante del ojo.

Prueba inicial: Se realizará inicialmente con un solo animal. Las observaciones deben permitir la determinación de la gravedad y reversibilidad antes de proceder a una prueba de confirmación en un segundo animal. Si los resultados de este ensayo indican que la sustancia es corrosiva o irritante severa para el ojo, no se debe realizar más ensayos de irritación ocular. Si un efecto irritante o

corrosivo severo no se observa en la prueba inicial, el irritante o respuesta negativa debe ser confirmado con un máximo de dos animales adicionales en forma secuencial.

Período de observación: El período de observación debe ser suficiente para evaluar plenamente la magnitud y la reversibilidad de los efectos observados. Sin embargo, el experimento debe ser terminado en cualquier momento que el animal muestra signos de dolor o malestar. Para determinar la reversibilidad de los efectos, los animales deben ser observados normalmente durante 21 días después de la administración de la sustancia problema.

Tabla 78: Comparación Ensayo OECD 405/US-EPA 870.2400

PARÁMETRO EVALUADO	OECD TG 405	US-EPA OPPTS 870.2400
Período de Exposición	24 horas líquidos, 1 hora sólidos.	24 horas.
Especie Seleccionada	Conejos albinos	Conejos albinos
Edad	8 a 12 semanas de edad	8 a 12 semanas de edad
NO de animales por grupo	1 animal	1 animal
Niveles de dosis	3 niveles de dosis	3 niveles de dosis
Número total de animales	3 conejos	3 conejos
Dosis prueba límite	0,1 ml líquidos, máximo 100 mg de sólidos.	0,1 ml líquidos, máximo 100 mg de sólidos.
Administración de sustancia química	La sustancia de ensayo se aplica en una sola dosis en el saco conjuntival en un ojo de cada animal.	La sustancia de ensayo se aplica en una sola dosis en el saco conjuntival en un ojo de cada animal.
Periodo de observación	21 días	21 días
Observaciones clínicas	1, 24, 48, y 72 horas después de la aplicación de la sustancia de ensayo y luego al menos 1 vez al día.	1, 24, 48, y 72 horas después de la aplicación de la sustancia de ensayo y luego al menos 1 vez al día.

Ensayos de Sensibilización

La respuesta alérgica consiste en una reacción específica antigénica frente a un compuesto químico en individuos predispuestos. En la mayoría de los casos se producen por reacciones de hipersensibilidad de tipo I y están mediadas por inmunoglobulinas E (IgE).

Ensayo in vivo: Sensibilización de la piel- Guía OECD 406/1992

Descripción del método: Este ensayo se desarrolló en el año 1981 y se actualizó en 1992, proporciona información sobre los peligros para la salud que puedan derivarse de la exposición a una sustancia de ensayo, a través de una inyección intradérmica y/o aplicación epidérmica. Los métodos preferidos son: **Ensayo de maximización en conejillos de indias de Magnusson y Kligman (GPMT)** que utiliza adyuvante en la que la sensibilización es potenciada por la inyección de coadyuvante completo de Freund (FCA), y pruebas no adyuvantes y el **ensayo Buehler** que no utiliza adyuvante.

El conejillo de indias ha sido el animal de elección para los ensayos predictivos de sensibilización durante varias décadas, pero se han desarrollado recientemente modelos en ratones para evaluar el potencial de sensibilización. El sistema inmune del ratón se ha investigado más ampliamente que el del conejillo de Indias. Recientemente, se han desarrollado modelos en ratas para evaluar el potencial de sensibilización de corta duración y con mínimos animales de ensayo. La prueba de inflamación de oreja de ratón (MEST) y el ensayo de ganglios linfáticos locales (LLNA) parecen ser prometedores. Ambos ensayos se han sometido a la validación en varios laboratorios y han demostrado que son capaces de detectar de forma fiable sensibilizantes moderados a fuertes. El LLNA y la MEST se pueden utilizar como una primera etapa en la evaluación del potencial de sensibilización de la piel. Si el resultado es positivo, la sustancia de ensayo puede ser designada como sensibilizante potencial y puede que no sea necesario llevar a cabo una prueba de conejillo de indias. Sin embargo, si el resultado es negativo, una prueba de conejillo de indias (preferiblemente un GPMT o Prueba de Buehler) debe llevarse a cabo mediante el procedimiento descrito en este método.

Para el GPMT se utilizan al menos 10 animales en el grupo de tratamiento y 5 en el grupo de control. Para el ensayo de Buehler, se utiliza un mínimo de 20 animales en el grupo de tratamiento y al menos 10 animales en el grupo de control. Los animales de ensayo se exponen inicialmente a la sustancia de ensayo. Después de un período de descanso, periodo de inducción (10-14 días), durante la cual una respuesta inmune puede desarrollarse, a continuación, los animales están expuestos a una dosis de desafío. El GPMT se realiza durante aproximadamente 23 a 25 días, el ensayo de Buehler, durante aproximadamente 30 a 32 días. La concentración de la sustancia de ensayo utilizada para cada exposición de inducción debe ser bien tolerado por vía sistémica y debe ser el más alto de causar irritación leve a moderada de la piel. La concentración utilizada para la exposición de provocación debe ser la dosis no irritante más alta. Las concentraciones apropiadas pueden ser determinadas a partir de un estudio piloto utilizando dos o tres animales.

DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO DE MAXIMIZACIÓN EN CONEJILLOS DE INDIAS (GPMT)

Inducción: Inyecciones intradérmicas

Día 0 - grupo tratado: Tres pares de inyecciones intradérmicas de 0,1 ml de volumen se administran en la región del hombro, de modo que cada par se encuentra en cada lado de la línea media.

Inyección 1: una mezcla 1: 1 (v/v) FCA /agua o solución salina fisiológica.

Inyección 2: Sustancia de ensayo en un vehículo apropiado en la concentración seleccionada.

Inyección 3: Sustancia de ensayo en la concentración seleccionada formulada en una mezcla 1: 1 (v / v) FCA / agua o solución salina fisiológica.

Día 0 - grupo de control: Tres pares de inyecciones intradérmicas de 0,1 ml de volumen se administran de la misma forma que el grupo tratado.

Inyección 1: una mezcla 1: 1 (v v) FCA /agua o solución salina fisiológica

Inyección 2: Vehículo sin diluir

Inyección 3: 50% w/v del vehículo en una mezcla 1:1 (v/v) FCA/agua o solución salina fisiológica.

Inducción: La aplicación tópica

Grupos tratados y de control - **Día 05-07:** Aproximadamente 24 horas antes de la aplicación tópica de inducción, si la sustancia de ensayo no es irritante de la piel, previo al corte y/o de afeitado del pelo del animal, se administra 0,5 ml de laurilsulfato de sodio al 10% en vaselina, a fin para crear una irritación local.

Día 6-8 grupo tratado: Se elimina el pelo desde el área de ensayo. En un papel filtro (2 x 4 cm) cargado completamente con la sustancia de ensayo en un vehículo adecuado, se aplica a la zona de ensayo y se mantiene en contacto con un apósito oclusivo durante 48 horas. La elección del vehículo debe justificarse. Los sólidos se pulverizan finamente y se incorporan en un vehículo adecuado. Los líquidos pueden aplicarse sin diluir.

Día 6-8 grupo de control: Se elimina el pelo desde el área de ensayo. Se aplica solo el vehículo de manera similar al grupo tratado y se mantiene en contacto mediante un apósito oclusivo durante 48 horas.

Desafío a la exposición: La aplicación tópica

Día 20-22 - grupos tratados y de control: Se elimina el pelo del animal. Se aplica un parche o cámara cargada con la sustancia de ensayo con el vehículo. Los parches se mantienen con un apósito oclusivo durante 24 horas.

Observaciones: Animales tratados y grupos de control

Aproximadamente 21 horas después de retirar el parche de la zona, se limpia y se corta y/o afeitado el pelo. 3 horas más tarde (aproximadamente 48 horas desde el inicio de la aplicación de

provocación), la reacción de la piel se observa y se registran según los grados se muestran a continuación:

0 = Sin cambio visible

1 = Eritema discreto o irregular

2 = Moderada y eritema confluyente

3 = Eritema e hinchazón intensa

Aproximadamente 24 horas después de esta observación, una segunda observación (72 horas) se realiza y se registra una vez más.

Re-exposición: Puede ser necesaria para aclarar resultados obtenidos en el primer desafío, un (es decir, una nueva provocación), en su caso con un nuevo grupo de control, se debe realizar una semana después de la primera exposición.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO BUEHLER

Número de animales: Un mínimo de 20 animales se utilizan en el grupo de tratamiento y al menos 10 animales en el grupo de control.

Niveles de dosis: La concentración de sustancia de ensayo utilizada para cada exposición de inducción debe ser la más alta para causar una ligera irritación. La concentración utilizada para la exposición de provocación debe ser la dosis no irritante más alta. La concentración apropiada puede ser determinada a partir de un estudio piloto utilizando dos o tres animales. En caso de sustancias hidrosolubles, es conveniente utilizar agua o una solución diluida no irritante de surfactante como el vehículo. Para otros materiales de prueba se prefiere 80% de etanol/agua para la inducción y acetona para la provocación.

Inducción: La aplicación tópica

Día 0 - grupo tratado: En primer lugar, se debe cortar el pelo del animal. El parche debe estar completamente cargado de sustancia de ensayo en un vehículo adecuado. El sistema del parche de ensayo se aplica a la zona de ensayo y se mantiene en contacto con la piel mediante un parche oclusivo o cámara y un apósito adecuado durante 6 horas.

Día 0 - grupo de control: En primer lugar, se debe cortar el pelo del animal. El vehículo se aplica de una manera similar a la utilizada para el grupo tratado. El sistema del parche de ensayo se mantiene en contacto con la piel mediante un parche oclusivo o cámara y un apósito adecuado durante 6 horas.

Día 6-8 y 13-15 tratados y los grupos de control: La misma aplicación que el día 0 se lleva a cabo en la misma zona de ensayo (eliminar el pelo si es necesario).

Desafío a la exposición

Día 27-29 - grupos tratados y de control: En el costado sin tratar de los animales tratados con la sustancia de ensayo y en el grupo control se elimina el pelo (por corte al rape). Se aplica un parche oclusivo o cámara que contiene la cantidad apropiada de sustancia de ensayo, a la concentración máxima no irritante, a la parte posterior del costado sin tratar de los animales tratados y de control. En su caso, un parche oclusivo o cámara con vehículo también se aplica a la parte anterior del costado sin tratar de los dos animales tratados y de control. Los parches o cámaras se mantienen con un apósito adecuado durante 6 horas.

Observaciones: Animales tratados y grupos control

21 horas después de retirar el parche del área desafío se elimina el pelo; tres horas más tarde (aproximadamente 30 horas después de la aplicación del parche de provocación) se observan y registran las reacciones de la piel de acuerdo con la clasificación recogida en el Ensayo de maximización en cobayas. 24 horas después de la observación de 30 horas (aproximadamente 54 horas después de la aplicación del parche de provocación), se observan reacciones cutáneas y se registran de nuevo.

Re-exposición: Si es necesario para aclarar los resultados obtenidos en el primer desafío, un segundo desafío (es decir, una nueva provocación), en su caso con un nuevo grupo de control, se debe considerar aproximadamente una semana después de la primera.

Las observaciones clínicas: En métodos todas las reacciones cutáneas y cualquier observación extraña, incluidas las reacciones sistémicas, derivadas de los procedimientos de inducción y provocación deben ser registradas. Examen histopatológico, medición del espesor del pliegue de la piel, se puede llevar a cabo para aclarar reacciones dudosas.

Sensibilización dérmica: Ensayo de Nódulo linfático local (LLNA)- Guía OECD 429/2010

Descripción del método: Este ensayo fue diseñado para evaluar el potencial de sensibilización de la piel de productos químicos en animales, puede emplearse como una alternativa en la que su resultado tanto positivo como negativo, no requieren una nueva confirmación.

El ensayo 406 utiliza las pruebas en conejillo de indias, en particular el ensayo de maximización en cobayo y el ensayo de Buehler. El LLNA ofrece ventajas sobre TG 406 en relación con el bienestar animal. Además estudia la fase de inducción de la sensibilización de la piel y proporciona datos cuantitativos adecuados para la evaluación de la dosis-respuesta.

El laboratorio debe considerar toda la información disponible sobre la sustancia de ensayo antes de la realización del estudio. Dicha información incluirá la identidad y la estructura química de la sustancia de ensayo; sus propiedades fisicoquímicas; los resultados de cualquier ensayo *in vitro* o ensayos de toxicidad *in vivo* previos y los datos toxicológicos sobre las sustancias químicas estructuralmente relacionadas. Esta información debe ser considerada con el fin de determinar si el LLNA es apropiado para la sustancia de ensayo y para ayudar en la selección de la dosis.

El LLNA es un método *in vivo* y como consecuencia, no eliminará el uso de animales en la evaluación. Sin embargo, reducir el número de animales requeridos para este propósito y ofrece un refinamiento sustancial (reduce el dolor y angustia) de la forma en que los animales se utilizan para el estudio de la sensibilización alérgica de contacto.

No requiere el uso de un adyuvante, como es el caso para el ensayo de maximización en cobayo, a pesar de las ventajas del LLNA sobre TG 406, se debe reconocer que hay ciertas limitaciones que pueden requerir el uso de TG 406 (por ejemplo, los resultados falsos negativos en el LLNA con ciertos metales, resultados positivos falsos con ciertos irritantes de la piel [tales como algunos productos químicos de tipo surfactante], o la solubilidad de la sustancia de ensayo).

Principio de la prueba: Se basa en que los sensibilizadores inducen la proliferación de linfocitos en los ganglios linfáticos que drenan el sitio de la aplicación de la sustancia de prueba. Esta proliferación es proporcional a la dosis y a la potencia del alérgeno aplicado y aporta un medio simple para la obtención de una medición cuantitativa de la sensibilización. La proliferación se mide comparando la proliferación media en cada grupo de ensayo con la proliferación media del grupo de control tratado con un vehículo (VC). La relación de la proliferación media en cada grupo tratado con el grupo VC se denomina índice de estimulación (SI) y debe ser ≥ 3 para ser clasificado como un potencial sensibilizador de la piel. Los métodos descritos se basan en el uso del etiquetado radiactivo

in vivo para medir un aumento del número de la proliferación de células en los ganglios linfáticos. Sin embargo, se pueden emplear otros criterios de valoración para la evaluación del número de células proliferantes.

Especie y número de animales: La especie elegida para este ensayo es la rata (hembra) de cepa CBA/Ca o CBA/J. Un mínimo de 4 animales se utiliza por grupo de dosis, con un mínimo de 3 concentraciones de la sustancia de ensayo, además de un grupo control negativo (NC) tratados sólo con el vehículo y un Control positivo (PC).

Dosis y vehículo: Dosis consecutivas normalmente se seleccionan a partir de una serie de concentraciones tal como 100%, 50%, 25%, 10%, 5%, 2,5%, 1%, 0,5%, etc. Fundamento científico adecuado debe acompañar la selección de la serie de concentración utilizada. El vehículo no debe interferir o sesgar el resultado de la prueba y debe ser elegido sobre la base de la maximización de la solubilidad con el fin de obtener la mayor concentración alcanzable mientras que produce una solución/suspensión adecuada para la aplicación de la sustancia problema. Vehículos recomendados son: acetona, aceite de oliva (4:1, v/v), N, N dimetilformamida, metil etil cetona, propilenglicol, y sulfóxido de dimetilo.

Ensayo preliminar: Ante la falta de información para determinar la dosis más alta a ensayar, una prueba de preselección se debe realizar con el fin de definir el nivel de dosis apropiado para poner a prueba el LLNA. Se lleva a cabo en condiciones idénticas al estudio principal LLNA, excepto que no hay evaluación de la proliferación de los ganglios linfáticos y hay un menor número de animales por grupo de dosis. Se sugieren 1 o 2 animales por grupo de dosis. Todos los ratones se observan diariamente para detectar cualquier signo clínicos de toxicidad sistémica o irritación local en el sitio de aplicación. Los pesos corporales se registraron antes del inicio y antes del fin de la prueba (día 6). Se observan ambos oídos de cada ratón para observar el eritema y se anotan los resultados, según la siguiente tabla:

Tabla 79: Score Eritema

OBSERVACIÓN	PUNTUACIÓN
Sin eritema	0
Muy ligero eritema (apenas perceptible)	1
Eritema bien definido	2
Moderada a severa eritema	3
Eritema grave (enrojecimiento de remolacha) Formación de escaras	4

Las mediciones del espesor del oído se toman utilizando un medidor de espesor (ejemplo, micrómetro digital) en el día 1 (pre-dosis), día 3 (aproximadamente 48 horas después de la primera dosis), y el día 6. Además, en el día 6, el grosor de la oreja puede ser determinada por las determinaciones del peso la oreja, posterior al sacrificio del animal. Irritación local de la piel excesiva se indica con una puntuación de eritema ≥ 3 y/o un aumento de grosor de la oreja de $\geq 25\%$ en cualquier día de la medición. Además de un aumento del 25% en el grosor de la oreja, un aumento estadísticamente significativo en grosor de la oreja en los ratones tratados en comparación con los ratones de control también se ha utilizado para identificar irritantes en el LLNA.

Las siguientes observaciones clínicas pueden indicar toxicidad sistémica cuando se utiliza como parte de una evaluación integrada, por lo que puede indicar el nivel de dosis máxima para su uso en el LLNA principal: Cambios en la función del sistema nervioso (por ejemplo, pilo-erección, ataxia, temblores y convulsiones); cambios en el comportamiento (por ejemplo, agresividad, cambio en la actividad de aseo, marcado cambio en el nivel de actividad); cambios en los patrones respiratorios (por ejemplo, cambios en la frecuencia e intensidad de la respiración, como disnea, jadeos y estertores), y los cambios en la alimentación y el consumo de agua. Además, signos de letargia, falta de respuesta, signos clínicos de dolor, angustia, > 5% de reducción en el peso corporal desde el día 1 al día 6 y la mortalidad se deben considerar en la evaluación.

Estudio principal

Día 1: Identificación individual del animal y registro del peso. Administrar 25 uL de la dilución adecuada de la sustancia de ensayo y el vehículo solo (control negativo) o el control positivo en el mismo volumen al dorso de cada oreja.

Días 2 y 3: Repetir el procedimiento realizado el Día 1.

Días 4 y 5: Ningún tratamiento.

Día 6: Anotar el peso de cada animal. Inyectar 250 uL de solución salina tamponada con fosfato estéril (PBS) a todas las ratas de ensayo y de control, a través de la vena de la cola. 5 horas más adelante los animales serán sacrificados. Luego extirpar los ganglios linfáticos de drenaje auriculares de cada oreja de ratón y procesar juntos en PBS para cada animal (enfoque individual del animal); alternativamente agrupar los ganglios linfáticos de cada oreja en PBS para cada grupo de tratamiento (enfoque combinado grupo de tratamiento).

Para más detalles del proceso y el diagrama de la identificación de los ganglios linfáticos y la disección, puede revisar la TG 429.

Para controlar aún más la respuesta local de la piel en el estudio principal, los parámetros adicionales, tales como la puntuación del eritema del oído o mediciones del espesor del oído (obtenidos mediante el uso de un medidor de espesor, o determinaciones oreja de peso golpe en la necropsia) pueden estar incluidos en el protocolo de estudio.

Preparación de las suspensiones celulares: Se prepara mediante la desagregación mecánica suave a través de una malla de gasa de acero inoxidable 200 micras u otra técnica aceptable para generar una suspensión celular. Luego se lava dos veces con un exceso de PBS y el ADN se precipita con ácido tricloroacético al 5% a 4°C durante 18 h. Posteriormente, se agrega 1 ml de ácido tricloroacético al 5% y se transfieren a viales de centelleo que contienen 10 ml de fluido de centelleo para recuento H-3 o directamente a los tubos de conteo gamma para 125I.

Determinación de la proliferación celular (incorporación de radiactividad): Se incorpora 3-metil H timidina y se mide por recuento de centelleo β como desintegraciones por minuto (DPM). La incorporación de 125I-yododesoxiuridina se mide por conteo 125I y se expresa como DPM.

Observaciones clínicas: Cada ratón se debe observar cuidadosamente al menos una vez al día en busca de signos clínicos, ya sea de irritación local en el sitio de aplicación o de toxicidad sistémica. Todas las observaciones se registrarán de manera individual y sistemáticamente para cada rata.

Planes de monitoreo debe incluir criterios para identificar rápidamente aquellos animales que presentan toxicidad sistémica, irritación local excesiva de la piel o corrosión.

Tabla 80: Comparación de ensayos sensibilización

Parámetro Evaluado	OCDE TG 406 GPMT	EPA OPPTS 870.2600	OCDE TG 429	EPA OPPTS 870.2600
Duración del ensayo	23-25 días	20-22 días	6 días	6 días
Especie seleccionada	conejillo de indias (cobayos)	conejillo de indias (cobayos)	Rata (hembra) de cepa CBA/Ca o CBA/J	Ratas (hembras) cepas CBA/Ca o CBA/J
Edad	8 a 12 semanas de edad	8 a 12 semanas de edad	8 a 12 semanas de edad	8 a 12 semanas de edad
Número de animales por grupo	10 animales por grupo tratado, 5 animales grupo control.	10 animales por grupo, 5 animales por grupo de control.	Un mínimo de 4 animales se utiliza por grupo de dosis, además un grupo control negativo (NC) tratados sólo con el vehículo y un Control positivo (PC).	Un mínimo de 5 animales se utiliza por grupo de dosis, además un grupo control negativo (NC) tratados sólo con el vehículo y un Control positivo (PC).
Grupos de ensayos	1 o 2 según resultados	No especifica	Un mínimo de 3 concentraciones de la sustancia de ensayo.	Un mínimo de 3 dosis consecutivas.
Administración de sustancia y dosis	0,1 ml por inyección intradérmica. - Parche con la sustancia de ensayo en un vehículo, se aplica a la zona de ensayo y se mantiene en contacto con un apósito oclusivo durante 48 horas.	No especifica	25 uL de la dilución adecuada de la sustancia de ensayo al dorso de cada oreja. 250 uL de solución salina tamponada con fosfato estéril (PBS), a través de la vena de la cola.	25 uL de la dilución adecuada de la sustancia de ensayo al dorso de cada oreja. 250 uL de solución salina tamponada con fosfato estéril (PBS), a través de la vena de la cola.
Observaciones clínicas	21 hrs. después de retirar el parche de la zona, se limpia y se corta y/o afeita el pelo del animal. 3 horas más tarde (aprox. 48 hrs del inicio de la aplicación de provocación), se observa la reacción de la piel y se registra. Se observa y registra 24 y 72 horas después.	Las reacciones cutáneas deben ser registradas después de las exposiciones de desafío. Esto es por lo general a las 24 y 48 horas. Anotaciones adicionales pueden ser necesarias para describir respuestas inusuales.	Al menos una vez al día en busca de signos clínicos.	Al menos una vez al día.

Ensayos de Genotoxicidad

Es ampliamente aceptado que el proceso de tumorigénesis inducido por agentes químicos en el ser humano conlleva cambios en proto-oncogenes y/o en genes supresores de tumores en células somáticas.

La mutagenicidad se refiere a la inducción de cambios transmisibles permanentes en la cantidad o estructura del material genético de células u organismos, de esta forma, una mutación se refiere al cambio permanente en la cantidad o en la estructura del material genético de una célula. Estos cambios pueden involucrar un solo gen, segmento, bloque de genes o cromosomas. El término clastogenicidad se utiliza para agentes que puedan dar lugar a aberraciones cromosómicas estructurales. Un clastógeno puede causar quiebres en los cromosomas que se traducen en pérdida o rearreglo de segmentos cromosomales. A su vez, aneugenicidad (inducción de aneuploidia) se refiere a los efectos de los agentes que dan lugar a cambios al número de cromosomas en las células (ganancia o pérdida de ellos). Un aneugeno puede causar pérdida o ganancia de cromosomas sin un múltiplo exacto del número haploide en las células.

La genotoxicidad es término más amplio y que se refiere a los procesos por los cuales se altera la estructura, contenido o segregación del ADN y que no necesariamente está asociado a mutagenicidad. Por lo tanto, en los ensayos de genotoxicidad se incluye aquellos que provean indicaciones de daño al ADN, síntesis de ADN no programada, intercambio de cromátidas hermanas, formación de aductos con ADN o recombinación mitótica, como también, ensayos de mutagenicidad como tal.

El objetivo de los ensayos de genotoxicidad es evaluar el potencial de una sustancia de inducir efectos genotóxicos los cuales pueden conducir a cáncer o causar daño heredable en humanos.

Sin embargo, una batería de ensayos se hace necesaria debido a que ningún ensayo en particular es capaz de detectar todos los posibles mecanismos de genotoxicidad relevantes en la tumorigénesis (ECHA, 2015).

Usualmente la batería de ensayos contempla:

- 1.- Evaluación de mutagenicidad mediante el ensayo de mutación reversa en bacterias.
- 2.- Evaluación de genotoxicidad *in vivo* y/o *in vitro* en células de mamíferos.

Entre los ensayos *in vitro* de genotoxicidad *in vitro*, la OECD considera los siguientes:

- El ensayo *in vitro* de aberraciones cromosómicas.
- El ensayo *in vitro* de micronúcleos.
- El ensayo de mutación génica en mouse lymphoma.

Estos ensayos se consideran igualmente apropiados y por lo tanto intercambiables. Se debe considerar ensayos *in vivo* debido a que algunos agentes son genotóxicos *in vivo*, pero no *in vitro* y además este tipo de ensayos toma en consideración los parámetros toxicocinéticos (ICH).

La evaluación de las aberraciones cromosómicas en metafase puede detectar un amplio espectro de cambios en la integridad cromosomal. El quiebre de cromátidas o cromosomas puede conducir a la formación de micronúcleos si se produce un fragmento acéntrico, por esta razón, los ensayos que detectan aberraciones cromosómicas como micronúcleos son apropiados para detectar clastógenos. Los micronucleos también se pueden producir por el retraso de un o más cromosomas enteros en la anafase por lo tanto el ensayo de micronúcleos tiene el potencial de detectar algunos inductores de aneuploidía. A su vez el ensayo MLA detecta mutaciones en el gen tk que produce mutaciones génicas y daño cromosoma.

De acuerdo a la guía sobre evaluación de genotoxicidad e interpretación de información para productos farmacéuticos de uso humano los resultados de ensayos *in vivo* (usualmente dos) con adecuada justificación de los parámetros evaluados y con exposición demostrada, se consideran generalmente como suficientes para demostrar la ausencia de potencial genotóxico (ICH, 2011). Usualmente una batería apropiada para caracterizar el perfil genotóxico de productos farmacéuticos involucra:

- i. Ensayo de mutación reversa en bacterias.
- ii. Ensayo in vitro de citogenicidad para daño cromosomal (ensayo de aberraciones cromosómicas o micronúcleos) o ensayo de mutagenicidad in vitro en células de mamíferos.
- iii. Ensayo in vivo de genotoxicidad, generalmente aberraciones cromosómicas o micronúcleos.

Tabla 17: Métodos *in vitro*

Métodos	Parámetro Genotóxico	Guía OCDE
Ensayo de mutación reversa en bacterias	Mutación génica	OECD 471
Ensayo de mutación genética en células de mamífero – ensayo hprt	Mutación génica	OECD 476
Ensayo de mutación genética en células de mamífero– ensayo linfoma ratón	Mutación génica y aberraciones cromosómicas estructurales.	OECD 476
Ensayo de aberraciones cromosómicas en mamíferos	Aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas.	OECD 473
Ensayo de micronúcleos	Aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas.	OECD 487

Ensayo de mutación reversa en bacterias – Guía OECD 471/1997

Descripción del método: El ensayo de mutación reversa emplea cepas de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*, dependientes de histidina usualmente, para la detección de mutaciones puntuales, las cuales involucran la sustitución, adición o depleción de uno o más pares de bases. El ensayo se basa en la reversión de la mutación presente en la cepa ensayada restableciendo la capacidad de sintetizar el amino ácido esencial. Los revertantes son detectados por su habilidad de crecer en ausencia del aminoácido requerido por la cepa original.

El ensayo puede no ser apropiado para la evaluación de ciertos químicos, tales como, bactericidas y aquellos que interfieran específicamente con los sistemas de replicación de células de mamíferos.

Cepas utilizadas: Se requiere la utilización de al menos cinco cepas bacterianas en las siguientes combinaciones recomendadas:

- 1.- *S. typhimurium* TA1535, y
- 2.- *S. typhimurium* TA1537 or TA97 or TA97a, y
- 3.- *S. typhimurium* TA98, y
- 4.- *S. typhimurium* TA100, y
- 5.- *E. coli* WP2 uvrA, o *E. coli* WP2 uvrA (pKM101), o *S. typhimurium* TA102.

Procedimiento: Las cepas son incubadas a 37°C por 48-72 h en presencia y ausencia de una fuente exógena de activación metabólica (usualmente, fracción microsomal S9) en un medio con concentraciones mínimas de histidina y biotina o triptófano. La sustancia es disuelta o suspendida en solvente o vehículo apropiado previo al tratamiento. Se den incluir en cada ensayo controles positivos y negativos, ambos con y sin activación metabólica.

Evaluación del resultado: Un resultado positivo se puede concluir al observar un aumento relacionado a la concentración o un aumento en una o más concentraciones en el número de colonias revertantes por placa en al menos una cepa con o son activación metabólica.

Ensayo de mutación genética en células de mamífero- Guía OECD 476/2015

Descripción del método: El objetivo del ensayo *in vitro* de mutación genética en células de mamífero es detectar mutaciones inducidas por sustancias químicas. Las líneas celulares en estos ensayos miden mutaciones directas (*forward*), específicamente, el gen endógeno de la hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa (Hprt) y el transgen xantina-guanina fosforibosil transferasa (gpt). Los ensayos Hprt y gpt pueden detectar una variedad de eventos genéticos, adicionalmente, el ensayo gpt puede permitir detectar mutaciones que se traducen en depleciones y recombinación mitótica no detectada por Hprt debido a que el gen Hprt está localizado en el cromosoma X.

El ensayo se basa en la sensibilidad de las células deficientes de actividad enzimática Hprt o gpt a los efectos citostáticos del análogo de las purinas 6-tioguanina (TG). Por lo tanto, las células mutadas son capaces de proliferar en la presencia de TG mientras que las células normales no lo hacen.

Procedimiento: Una suspensión de células o cultivo en monocapa se exponen a la sustancia evaluada con y sin una fuente exógena de activación metabólica por un periodo apropiado de tiempo (3-6 horas) y luego sub-cultivada para determinar citotoxicidad y permitir la expresión fenotípica previo a la selección mutante. El cultivo tratado se mantiene en medio de crecimiento por un periodo de tiempo apropiado que permita la expresión fenotípica de las mutaciones inducidas (7-9 días). Posteriormente, la frecuencia de mutación se determina al exponer las células al agente selectivo para determinar viabilidad. Luego del tiempo de cultivo se determina el número de colonias. La frecuencia de mutación se calcula en base al número de colonias mutantes corregida

por la eficiencia de clonación al momento de la selección de mutantes. Concurrentemente, se deben incorporar controles negativos y positivos.

Evaluación de resultados: El resultado se considera positivo si al menos una de las concentraciones ensayadas exhibe un aumento estadísticamente significativo con respecto al control negativo, o se observa un aumento dosis-respuesta cuando se evalúa con un test apropiado de tendencia, o cualquier resultado se encuentra fuera del rango de distribución del control histórico negativo. Por el contrario, un ensayo se considera negativo cuando ninguna de las concentraciones ensayadas exhibe un aumento estadísticamente significativo, no se observa un aumento dosis-dependiente y todos los resultados se encuentran dentro de la distribución histórica negativa de los datos control.

Ensayo de aberraciones cromosómicas en mamíferos- Guía OECD 473/2014

Descripción del método: El objetivo del ensayo de aberraciones cromosómicas es identificar aquellas sustancias que causan daño estructural en cromosomas de células de mamíferos resultante de eventos clastogénicos. Las aberraciones estructurales pueden ser a nivel cromosomal o cromátida. La poliploide podría surgir en el ensayo de aberración cromosómica. Mientras los aneugenos pueden inducir poliploide, ésta no indica potencial aneugénico y puede simplemente indicar perturbación del ciclo celular o citotoxicidad. El ensayo no está diseñado para evaluar aneuploidía. El ensayo puede utilizar cultivos de líneas celulares o cultivos primarios humanos o de roedores en presencia de una fuente exógena de activación metabólica. El análisis de la inducción de aberraciones cromosómicas se debe llevar a cabo en células en metafase.

Procedimiento experimental: Los cultivos celulares son expuestos al agente con y sin fuente de activación metabólica. A intervalos predeterminados tras la exposición, las células son tratadas con un agente que interrumpe la metafase (usualmente colchicina o Colcemid®), son cosechadas, teñidas y las células en metafase analizadas mediante microscopía determinando aberraciones de tipo cromatina y cromosomal. En la práctica, las células deben estar expuestas al agente por 3-6 horas (en ausencia y presencia de activación metabólica, si es necesario) y recolectadas en un tiempo equivalente a 1,5 ciclos celulares normales tras iniciado el tratamiento. 1 a 3 horas antes de la cosecha, las células son tratadas con Colcemid® o colchicina. Posteriormente, las células son fijadas y teñidas para su análisis.

Células: Las líneas celulares utilizadas comúnmente son CHO, V79, CHL/IU y TK6, así como cultivos primarios de linfocitos periféricos sanguíneos humanos o de otra especie mamífera.

Evaluación de resultados: El resultado se considera positivo si al menos una de las concentraciones ensayadas exhibe un aumento estadísticamente significativo con respecto al control negativo concurrente, o se observa un aumento dosis-respuesta cuando se evalúa con un test apropiado de tendencia, o cualquier resultado se encuentra fuera del rango de distribución del control histórico negativo. Por el contrario, un ensayo se considera negativo cuando ninguna de las concentraciones ensayadas exhibe un aumento estadísticamente significativo en relación al control negativo concurrente, no se observa un aumento dosis-dependiente y todos los resultados se encuentran dentro de la distribución histórica negativa de los datos control.

Descripción del método: Este ensayo de genotoxicidad detecta micronúcleos (MN) en el citoplasma de células en interfase. Los micronúcleos se pueden originar de fragmentos de cromosoma acéntricos o cromosomas enteros que son incapaces de migrar a los polos en la anafase del proceso de división celular y quedan excluidos de los núcleos de las nuevas células. De esta forma, el ensayo de micronúcleos provee evidencia de daño potencial a los cromosomas por agentes aneugénos y clastógenos en células que se han dividido durante o luego de la exposición al agente. Los micronúcleos, a diferencia de las aberraciones cromosómicas, representan daño que ha sido transmitido a la célula hija. Sin embargo, en ambos casos los efectos pueden no ser compatibles con la sobrevivencia celular.

Procedimiento: Cultivos celulares humanos o de otra especie mamífero son expuestas al agente en la presencia o ausencia de una fuente exógena de activación metabólica. Durante o tras la exposición a la sustancias, las células son cultivadas por un periodo suficiente para permitir el daño cromosomal u otros efectos sobre el ciclo celular o división celular. Para la inducción de aneuploidia, el agente debe estar presente durante la mitosis. Posteriormente, las células son cosechadas y teñidas son analizadas para detectar la presencia de micronúcleos. Idealmente, los MN deben ser cuantificados en aquellas células que han completado una mitosis durante la exposición al agente.

Cultivos celulares utilizados: Cultivos primarios de linfocitos periféricos y líneas celulares de roedores tales como CHO, V79, CHL/IU y L5178Y o líneas celulares humanas tales como TK6 . Otras líneas celulares tal como HT29, Caco-2, HepaRG, HepG2, A549 y células de embrión de Syrian Hamster.

Evaluación de resultados: El resultado se considera positivo si al menos una de las concentraciones ensayadas exhibe un aumento estadísticamente significativo con respecto al control negativo concurrente, o se observa un aumento dosis-respuesta cuando se evalúa con un test apropiado de tendencia, o cualquier resultado se encuentra fuera del rango de distribución del control histórico negativo. Por el contrario, un ensayo se considera negativo cuando ninguna de las concentraciones ensayadas exhibe un aumento estadísticamente significativo en relación al control negativo concurrente, no se observa un aumento dosis-dependiente y todos los resultados se encuentran dentro de la distribución histórica negativa de los datos control.

Toxicidad a Dosis Repetidas

Se conocen como ensayos de toxicidad a dosis repetidas los que involucran administraciones de no menos del 10 por ciento de la vida media del animal, la administración es diaria y se realiza en dos especies y en ambos sexos; no se diferencian de los agudos en el fondo, más que en el tiempo de duración. Los objetivos fundamentales de estos ensayos es conocer los efectos a largo plazo y determinar la dosis sin efecto adverso observado (NOAEL). Se identifican los órganos diana y la posible reversión de efectos, detectando si son acumulativos o retardados. La administración de la sustancia es diaria con tres grupos de prueba y un control; además puede agregarse un grupo satélite con la dosis máxima, para evaluar reversibilidad. La duración del estudio será distinta dependiendo de las propiedades fisicoquímicas del producto a ensayar y de la especie animal. Se realizan observaciones físicas y análisis de bioquímica clínica, posteriormente, se lleva a cabo la autopsia y estudio anatomopatológico macroscópico, se pesan todos los órganos y se disponen para el estudio microscópico. La selección de la dosis se puede obtener desde estudios de toxicidad aguda (M.Repetto, G. Repetto;2009).

Tabla 18: Ensayos OECD Toxicidad a dosis repetidas

Guía OCDE	Ensayo	Fecha
407	Toxicidad oral dosis repetidas-28 días en roedores	3 octubre 2008
408	Toxicidad Oral dosis repetidas-90 días en roedores	21 septiembre 1998
410	Toxicidad dermal dosis repetidas:21/28 días	12 mayo 1981
411	Toxicidad dermal subcrónica 90 días	12 mayo 1981
412	Toxicidad subaguda por inhalación 28 días	07 septiembre 2009
413	Toxicidad subcrónica por inhalación 90 días	07 septiembre 2009

Consideraciones generales para evaluación de toxicidad por vía oral a dosis repetidas.

a) Administración de dosis: La sustancia de ensayo es administrada diariamente por vía oral en dosis graduadas a distintos grupos de animales de experimentación, un grupo por nivel de dosis por (28/90) días. Durante el período administración los animales son observados diariamente una vez por signos de toxicidad. Los animales que mueren durante la exposición deben ser necropsiados. El día 28 de estudio se obtiene información de efectos a dosis repetidas por exposición por vía oral y puede indicar la necesidad de estudios posteriores. El objetivo es determinar la relación dosis-respuesta y la determinación de NOAEL.

b) Selección de especie animal: La especie preferida es la rata, se deben utilizar animales jóvenes y saludables; las hembras deben ser núlparas y no preñadas. La dosificación puede comenzar tan pronto como sea posible después del destete y antes de las 9 semanas de edad. No debe existir una variación de más de un 20 % del promedio de peso por cada sexo. Se pueden utilizar especies no roedoras, como lo especifica la Guía OECD 409/1998; pero su uso tiene que justificarse.

c) Alojamiento y alimentación: La temperatura de la sala de experimentación tiene que ser 22 ± 3 °C y la humedad entre 50 y 60 % y durante la limpieza entre 30 y 70 %. El fotoperiodo debe ser 12hr/12hr luz/oscuridad. Para la alimentación se usan dietas convencionales de laboratorio;

regularmente deben realizarse análisis de contaminantes al alimento. El agua debe disponerse *ad libitum*. Los animales deben permanecer en grupos pequeños, del mismo sexo no más de cinco animales por jaula y en jaulas individuales cuando el estudio lo amerite.

d) Preparación de animales: Los animales se asignan aleatoriamente a los grupos de prueba y control, se identifican y se dejan en las jaulas a lo menos 5 días antes de comenzar el estudio para su aclimatación a las condiciones de laboratorio.

e) Preparación de dosis: La sustancia de prueba es administrada vía gavage, en el alimento o en el agua de beber. El método va a depender de la propuesta del estudio y de las propiedades fisicoquímicas y toxicocinéticas de la sustancia. Si es necesario debe ser disuelta en un vehículo en lo posible una solución o suspensión acuosa; si no se debe considerar una solución o suspensión en aceite, en último lugar otros vehículos. Para vehículos distintos de agua deben conocerse sus características tóxicas. Se debe determinar la estabilidad de la sustancia en el vehículo.

Toxicidad oral a dosis repetidas-28 días en roedores- Guía OECD 407/ 2008

Descripción del método: Estudio que permite evaluar características tóxicas de una sustancia química, en exposición repetida. La selección de la dosis por vía oral puede determinarse de la información de toxicidad obtenida en el estudio agudo. Proporciona información sobre los posibles riesgos para la salud que puedan derivarse de una exposición a un tiempo limitado. El método involucra toxicidad de dosis repetidas para los productos químicos en los que el estudio de 90 días no se justifica, o como fase previa a un estudio a largo plazo. La exposición por lo general es de 28 días, aunque en ciertas ocasiones podría durar 14 días siempre y cuando sea apropiado y justificado.

Se deben utilizar al menos 10 animales (5 hembras y 5 machos) por cada nivel de dosis, si se planea eutanasia intermedia se debe aumentar el número de animales. Se considera un grupo satélite de 10 animales 5 por sexo y se administra la dosis mayor para observar reversibilidad, persistencia o retraso de ocurrencia de efectos tóxicos, por lo menos 14 días post-tratamiento. Se utilizan al menos tres grupos de prueba y un control. La elección de dosis se realiza a partir de otros datos disponibles en relación a la toxicocinética de la sustancia, de lo contrario, puede realizarse un estudio de determinación de intervalos, para seleccionar la dosis. La dosis mayor debe elegirse de manera que induzca efecto, pero no la muerte o sufrimiento animal. Se puede realizar una prueba límite cuando se espera que no existan efectos a dosis de 1000 mg/kg de peso/día, por lo que no se justificaría realizar tres niveles de dosis. Los animales pertenecientes al grupo control deben ser manipulados de la misma manera que los de prueba, si se utilizó vehículo para diluir la sustancia el grupo control debe recibirlo en el mismo volumen utilizado en el nivel de dosis mayor. La sustancia se administra 7 días a la semana por 28 días, cuando se hace vía *gavage* es en una dosificación por sonda gástrica, procurando que sea al mismo tiempo cada día y una dosis constante en términos de peso corporal del animal. El volumen máximo no debe exceder 1mL/100 gr de peso corporal del animal en el caso que se trate de una solución acuosa, puede ser de hasta 2 mL /100 gr de peso. Cuando la sustancia se administra por el alimento o agua, la concentración debe ser constante (ppm), en términos del peso corporal del animal cada día.

Las observaciones clínicas deben realizarse todos los días, por lo menos una vez, preferentemente a la misma hora y por lo menos dos veces en animales que presenten morbilidad o mortalidad. Se

efectúa por lo menos una vez antes de la primera exposición y una vez a la semana, una vez iniciado el tratamiento una observación clínica detallada, fuera de la jaula; preferentemente usando sistema de puntaje definido por el laboratorio y se debe observar cambios en la piel, pelaje, membranas mucosas, secreciones y excreciones, cambios de postura, presencia de movimientos tónico clónicos y comportamiento extraño. En la cuarta semana de exposición se evalúa la reactividad sensorial, fuerza de presión y la actividad motora. Semanalmente se debe registrar el peso corporal de los animales y el consumo de agua y alimento. Una vez que termine el período de exposición, se debe dejar en ayuno a los animales la noche anterior a la eutanasia para realizar pruebas hematológicas (hemoglobina, hematocrito, conteo de eritrocitos, reticulocitos, conteo total y diferencial de leucocitos y medición de tiempo de coagulación). Además se lleva a cabo análisis bioquímico clínico para investigar efectos tóxicos en tejidos, específicamente en hígado y riñones; se mide: sodio, potasio, colesterol total, urea creatinina, proteínas totales y albúmina, por lo menos dos enzimas hepatocelulares y ácidos biliares. El urianálisis es opcional, en caso de que se lleve a cabo se determina: apariencia, volumen, osmolalidad, pH, proteínas, glucosa y células sanguíneas. En cuanto a la necropsia se debe examinar la superficie externa, todos los orificios y cavidades torácica y craneales. Los órganos se recolectan y pesan (hígado, riñones, adrenales, testículos, epidídimos, próstata + vesículas seminales, timo, bazo, cerebro y corazón) y se fijan para posterior análisis histopatológico. Además se mantienen en fijador adecuado para evaluar mediante histología la médula espinal, ojos, estómago, intestinos, pulmones, tráquea, gónadas y órganos accesorios, tiroides, ganglios linfáticos, músculo esquelético, hueso, o cualquier órgano diana dependiendo del estudio y la sustancia de prueba. La histología se evalúa para todos los animales de grupos de prueba y control; ahora si no hubo cambios se puede realizar histología del grupo administrado con la dosis mayor. Todos los resultados tienen que tabularse en relación a cada animal y grupo correspondiente. Cuando los resultados sean numéricos se debe incluir análisis estadístico.

Tabla 19: Comparación OECD 407/EPA 870.3050

Parámetro	OECD 407/2008	EPA OPPTS 870.3050/2000
Período de Exposición	28 días	28 días
Especie	Preferentemente rata	Preferentemente rata
Edad	Menor a 9 semanas	Menor a 9 semanas
NO de animales por grupo	Al menos 10 (5 hembras y 5 machos)	Al menos 10 (5 hembras y 5 machos)
Grupos	Al menos 3 de prueba y 1 control	Al menos 3 de prueba y 1 control
Grupo satélite	Si	Si
Dosis prueba límite	1000 mg/kg/peso corporal/día	1000 mg/kg/peso corporal/día
Administración de sustancia	Gavage: 7 días a la semana por 28 días Alimento o agua: 28 días	Gavage: 7 días a la semana por 28 días, o 5 días a la semana cuando se justifique Alimento o agua: 28 días
Observaciones clínicas	Por lo menos una vez al día a la misma hora	Por lo menos una vez al día a la misma hora

Descripción del método: Estudio que permite evaluar características tóxicas de una sustancia química, en exposición repetida. Las dosis utilizadas pueden establecerse a partir del estudio de toxicidad oral a dosis repetidas de 28 días. Proporciona información sobre los posibles riesgos para la salud que puedan derivarse de la exposición repetida durante un período prolongado de tiempo que involucra maduración y crecimiento hasta la edad adulta, valorando los efectos tóxicos mayores en órganos y su posible acumulación. Permite estimar NOAEL, el que puede ser utilizado para seleccionar dosis para estudios crónicos o para establecer criterios de seguridad para exposición humana.

Se deben utilizar al menos 20 animales (10 hembras y 10 machos) por cada nivel de dosis, si se planea eutanasia intermedia se debe aumentar el número de animales. Se considera un grupo satélite de 10 animales 5 por sexo en el control y se administra la dosis mayor para observar reversibilidad, persistencia o retraso de ocurrencia de efectos tóxicos, por lo menos 14 días post-tratamiento. Se utilizan al menos tres grupos de prueba y un control. La elección de dosis se realiza a partir de estudios de dosis repetidas anteriores o rangos estudiados teniendo en cuenta la información toxicocinética y toxicológica de la sustancia. La dosis mayor debe elegirse de manera que induzca efecto pero no la muerte o sufrimiento animal. Se puede realizar una prueba límite cuando se espera que no existan efectos a dosis de 1000 mg/kg de peso/día por gavage; por lo que no se justificaría realizar tres niveles de dosis. Los animales pertenecientes al grupo control deben ser manipulados de la misma manera que los de prueba, si se utilizó vehículo para diluir la sustancia el grupo control debe recibirlo en el mismo volumen utilizado en el nivel de dosis mayor. La sustancia se administra 7 días a la semana por 90 días, cualquier otro tipo de dosificación debe justificarse. Cuando se hace vía gavage es en una dosificación por sonda gástrica, procurando que sea al mismo tiempo cada día y una dosis constante en términos de peso corporal del animal. El volumen máximo no debe exceder 1mL/100 gr de peso corporal del animal en el caso que se trate de una solución acuosa, puede ser de hasta 2 mL /100 gr de peso. Cuando la sustancia se administra por el alimento o agua, la concentración debe ser constante (ppm), en términos del peso corporal del animal cada día. Las observaciones clínicas deben realizarse todos los días, por lo menos una vez, preferentemente a la misma hora y por lo menos dos veces en animales que presenten morbilidad o mortalidad. Se efectúa por lo menos una vez antes de la primera exposición y una vez a la semana, una vez iniciado el tratamiento una observación clínica detallada, fuera de la jaula; preferentemente usando sistema de puntaje definido por el laboratorio y se debe observar cambios en la piel, pelaje, membranas mucosas, secreciones y excreciones, cambios de postura, presencia de movimientos tónico clónicos y comportamiento extraño. En la cuarta semana de exposición se evalúa la reactividad sensorial, fuerza de presión y la actividad motora. Una vez antes de la primera exposición y al término del estudio debe realizarse un examen oftalmológico de preferencia en todos los animales, o por lo menos en los que se administraron con la dosis mayor. Semanalmente se debe registrar el peso corporal de los animales y el consumo de agua y alimento. Una vez que termine el período de exposición, se debe dejar en ayuno a los animales la noche anterior a la eutanasia para realizar pruebas hematológicas (hemoglobina, hematocrito, conteo de eritrocitos, reticulocitos, conteo total y diferencial de leucocitos y medición de tiempo de coagulación). Además, se lleva a cabo análisis bioquímico clínico para investigar efectos tóxicos en tejidos, específicamente en hígado y riñones; se mide: sodio, potasio, colesterol total, urea creatinina, proteínas totales y albúmina, por

lo menos dos enzimas hepatocelulares y ácidos biliares. El urianálisis es opcional, en caso de que se lleve a cabo se determina: apariencia, volumen, osmolalidad, pH, proteínas, glucosa y células sanguíneas. En cuanto a la necropsia se debe examinar la superficie externa, todos los orificios y cavidades torácica y craneales. Los órganos se recolectan y pesan (hígado, riñones, adrenales, testículos, epidídimos, próstata + vesículas seminales, timo, bazo, cerebro y corazón) y se fijan para posterior análisis histopatológico. Además, se mantienen en fijador adecuado para evaluar mediante histología la médula espinal, tiroides, paratiroides, esófago, glándulas salivales, estómago, intestinos, páncreas, tráquea, pulmones, aorta, gónadas y órganos accesorios, glándula mamaria, próstata, vejiga, ganglios linfáticos, nervio periférico, ojos y piel, o cualquier órgano diana dependiendo del estudio y la sustancia de prueba. La histología se evalúa para todos los animales de grupos de prueba y control; ahora si no hubo cambios se puede realizar histología del grupo administrado con la dosis mayor. Todos los resultados tienen que tabularse en relación a cada animal y grupo correspondiente. Cuando los resultados sean numéricos se debe incluir análisis estadístico.

Tabla 20: Comparación OECD 408/EPA 870.3100

Parámetro	OECD 408/1998	EPA OPPTS 870.3100/1998
Período de Exposición	90 días	90 días
Especie	Preferentemente rata	Preferentemente rata
Edad	Jóvenes y saludables	8-9 semanas
NO de animales por grupo	Al menos 20 (10 hembras y 10 machos)	Al menos 20 (10 hembras y 10 machos)
Grupos	Al menos 3 de prueba y 1 control	Al menos 3 de prueba y 1 control
Grupo satélite	Si	Si
Dosis prueba límite	1000 mg/kg/peso corporal/día	1000 mg/kg/peso corporal/día
Administración de sustancia	Gavage: 7 días a la semana por 90 días. Alimento o agua: 28 días	Gavage: 7 días a la semana por 90 días o 5 días a la semana es aceptable. Alimento o agua: 28 días
Observaciones clínicas	Por lo menos una vez al día a la misma hora	Por lo menos una vez al día a la misma hora

Consideraciones generales para evaluación de toxicidad por vía dermal a dosis repetidas

a) Administración de dosis: La sustancia de ensayo se aplica diariamente a la piel en dosis graduadas a distintos grupos de animales de experimentación, una dosis por grupo, durante un periodo de 21/28/90 días. Durante el período de aplicación los animales se observan diariamente para detectar signos de toxicidad. Los animales que mueren durante el estudio deben someterse a necropsia al igual que los sobrevivientes una vez que termine el estudio.

b) Selección de especie animal: Se pueden utilizar ratas adultas, conejos o conejillos de india, el uso de cualquier otra especie requiere justificación. El rango de peso para el caso de las ratas es de 200 a 300 gamos; conejos 2 a 3 kilos y para los conejillos de india entre 350 y 450 gramos.

c) Alojamiento y alimentación: Los animales deben estar alojados en cajas individuales. La temperatura de la sala de experimentación debe ser de 22 ± 3 °C para el caso de roedores y 20 ± 3 °C para conejos. La humedad relativa debe estar entre 30 y 70 %. El fotoperiodo comprende 12hr/12hr luz/oscuridad. En cuanto a la alimentación se usan dietas convencionales de laboratorio y agua *ad libitum*.

d) Preparación de animales: Los animales se distribuyen al azar y los grupos tratamiento y controles. Se aclimatan a las condiciones de laboratorio durante al menos 5 días antes de la prueba. Poco antes del comienzo del estudio el pelaje se recorta en la parte dorsal del tronco de los animales; no menos del 10 % de la superficie corporal del animal. Se puede realizar el afeitado 24 horas antes de la aplicación del producto, generalmente el afeitado se repite una vez a la semana. En este procedimiento se debe evitar la abrasión de la piel pues podría afectar la permeabilidad; a menos que esto sea un requisito del estudio.

e) Preparación de dosis: Cuando la sustancia química de prueba se encuentra en estado sólido, debe humedecerse con agua o un vehículo adecuado para asegurar el buen contacto con la piel. En el caso de utilizar vehículo. Las sustancias líquidas se utilizan generalmente sin diluir.

Toxicidad dermal dosis repetidas: 21/28 días- Guía OECD 410/1981

Descripción del método: Es un estudio que proporciona información sobre posibles riesgos para la salud que puedan derivarse de una exposición dérmica repetida a una sustancia de prueba por un plazo de 21/28 días. Este estudio no permite determinar efectos a largo plazo y su extrapolación al ser humano es válido sólo en un grado limitado. Sin embargo, proporciona información útil en cuanto al grado de absorción percutánea, órganos diana y posibilidades de acumulación. Además, puede usarse para seleccionar niveles de dosis para estudios a largo plazo y establecer criterios de seguridad para exposición humana.

Se deben utilizar al menos 10 animales (5 hembras y 5 machos) con piel saludable para cada nivel de dosis. Las hembras deben ser núlparas y no preñadas. Si se planea la eutanasia intermedia se debe aumentar el número de animales. Para el grupo satélite también se usan 10 animales, 5 de cada sexo; estos son tratados por 21/28 días con la dosis más alta para observar reversibilidad, persistencia o retraso de ocurrencia de efectos tóxicos, por lo menos 14 días post-tratamiento. Se usan por lo menos tres niveles de dosis y un control, si es que es apropiado otro grupo de control de vehículo. Los animales pertenecientes al grupo control deben ser manipulados de la misma manera que los de prueba. La dosis mayor debe elegirse de manera que induzca efecto pero no la muerte o sufrimiento animal y la dosis menor no debe producir toxicidad. Si la sustancia produce irritación severa la concentración debe reducirse hasta que los efectos tóxicos disminuyan o desaparezcan. Ahora si los daños son graves se puede terminar el estudio y comenzar otro con dosis más bajas. Se puede realizar una prueba límite cuando se espera que no existan efectos a dosis de 1000 mg/kg de peso/día, cuando no se espera observar efectos tóxicos a esa dosis basado en datos estructurales del compuesto. Los animales son tratados con la sustancia por al menos 6 horas al día, siete días a la semana por 21/28 días. Sin embargo, por consideraciones prácticas sería aceptable la aplicación por cinco días a la semana. Se aplica uniformemente en el área depilada, entre las aplicaciones de la sustancia de ensayo se mantiene en contacto con la piel un apósito o gasa porosa

con cinta no irritante, de manera de retener la sustancia y asegurar que los animales no puedan ingerirla.

Las observaciones se realizan una vez al día. Los signos de toxicidad deben registrarse en cuanto al tiempo, grado y duración del efecto. Las observaciones incluyen cambios en piel y pelaje, ojos y membranas mucosas y sistemas respiratorio, circulatorio, autonómico, central y actividad somatomotora. El consumo de alimento y peso corporal tiene que registrarse una vez a la semana. Al final del estudio los animales deben ser necropsiados a excepción de los del grupo satélite que se mantienen en observación por 14 días. Las pruebas clínicas deben realizarse al terminar estudio. Las pruebas hematológicas incluyen: hematocrito, hemoglobina, recuento de eritrocitos, leucocitos y plaquetas; tiempo de coagulación, tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina. En cuanto al análisis de bioquímica-clínica es apropiado pruebas sanguíneas función renal y hepática; se sugiere determinar: calcio, fósforo, cloro, sodio, potasio, glucosa en ayunas (con período de ayuno convenga a la especie), transaminasa glutámico-pirúvico sérica, transaminasa glutámico suero-oxalacética sérica, ornitina descarboxilasa, gamma glutamil transpeptidasa, nitrógeno, albúmina, creatinina plasmática, bilirrubina total y proteínas séricas totales. Una evaluación toxicológica adecuada incluye análisis de lípidos, hormonas, equilibrio ácido / base, metahemoglobina, actividad colinesterasa. Se pueden incluir otros exámenes para extender la investigación de los efectos observados. El análisis de orina se requiere cuando se espera toxicidad. En relación a la necropsia, se debe examinar la superficie externa, todos los orificios y cavidades torácica y craneales. Se pesan hígado, riñones, gónadas y glándulas suprarrenales tan pronto se pueda luego de la disección. Los demás órganos y tejidos deberán conservarse para examen histopatológico, esto se realiza para el grupo control y el grupo administrado con la dosis mayor. El hígado y riñones son órganos diana si muestran lesiones aparentes o cambios de tamaño. Los datos se presentan en tablas para cada grupo de prueba y animal; lesiones que presentan los animales y porcentaje de animales que presenten cada lesión. Cuando los resultados sean numéricos se debe incluir análisis estadístico.

Tabla 21: Comparación OECD 410/EPA 870.3200

Parámetro	OECD 410/1981	EPA OPPTS 870.3200/1998
Período de Exposición	21/28 días	21/28 días
Especie	Rata/Conejo Conejillo de india	Rata/Conejo Conejillo de india
Edad	Jóvenes y saludables	Jóvenes y saludables
NO de animales por grupo	10 animales (5 hembras y 5 machos)	20 animales (10 hembras y 10 machos)
Grupos	Al menos 3 de prueba; 1 control y control de vehículo si corresponde.	Al menos 3 de prueba; 1 control y control de vehículo si corresponde.
Grupo satélite	Si	Si
Dosis prueba límite	1000 mg/kg/peso corporal/día	1000 mg/kg/peso corporal/día
Administración de sustancia	Uniformemente en sitio de administración por 6 horas/día 7 días a la semana por 21/28 días. Por efectos prácticos	Uniformemente en sitio de administración por 6 horas/día 7 días a la semana por 21/28 días. Por efectos prácticos

	podría ser por 5 días a la semana.	podría ser por 5 días a la semana.
Observaciones clínicas	Por lo menos una vez al día.	Dos veces al día.

Toxicidad dermal dosis repetidas: 90 días- Guía OECD 411/ 1981

Descripción del método: Es un estudio que proporciona información sobre posibles riesgos para la salud que puedan derivarse de una exposición dérmica repetida a una sustancia de prueba por un plazo de 90 días. Puede realizarse después de obtener información desde los estudios agudos.

Se utilizan al menos 20 animales (10 hembras y 10 machos) con piel saludable para cada nivel de dosis. Las hembras deben ser nulíparas y no preñadas. Si se requiere eutanasia intermedia se debe aumentar el número de animales. Para el grupo satélite también se usan 20 animales, 10 hembras y 10 machos; estos son tratados por 90 días con la dosis más alta mayor para observar reversibilidad, persistencia o retraso de ocurrencia de efectos tóxicos, por lo menos 28 días post-tratamiento. Se usan por lo menos tres niveles de dosis y un control, si es que es apropiado otro grupo control de vehículo. Los animales del grupo control deben ser manipulados de la misma manera que los de prueba. La dosis mayor debe seleccionarse de modo que induzca efecto, pero no la muerte o sufrimiento animal y la dosis menor no debe producir toxicidad. Si la sustancia produce irritación severa la concentración debe reducirse hasta que los efectos tóxicos disminuyan o desaparezcan. Sin embargo, si los daños son graves se puede terminar el estudio y comenzar otro con dosis más bajas. Se puede realizar una prueba límite cuando se espera que no existan efectos a dosis de 1000 mg/kg/ de peso/día, cuando no se espera observar efectos tóxicos a esa dosis basado en datos estructurales del compuesto. Los animales son tratados con la sustancia por al menos 6 horas al día, siete días a la semana por 90 días. Sin embargo, por consideraciones prácticas sería aceptable la aplicación por cinco días a la semana. La sustancia de ensayo se aplica uniformemente en el área depilada, entre las aplicaciones se mantiene en contacto con la piel un apósito o gasa porosa con cinta no irritante, de manera de retener la sustancia y asegurar que los animales no puedan ingerirla.

Las observaciones se realizan al menos una vez al día. Los signos de toxicidad deben registrarse en cuanto al tiempo, grado y duración del efecto. Las observaciones incluyen cambios en piel y pelaje, ojos y membranas mucosas y sistemas respiratorio, circulatorio, autonómico, central y actividad somatomotora. El consumo de alimento y peso corporal se registra una vez a la semana. Una vez antes de la primera exposición y al término del estudio se debe realizar un examen oftalmológico de preferencia en todos los animales, o por lo menos en los que se administraron con la dosis mayor. Se lleva a cabo la necropsia para todos los grupos excepto para los animales los del grupo satélite que se mantienen en observación por 28 días. Además se realizan pruebas clínicas entre ellas las hematológicas que involucran: hematocrito, hemoglobina, recuento de eritrocitos, leucocitos y plaquetas; tiempo de coagulación, tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina. En cuanto al análisis de bioquímica-clínica es apropiado pruebas sanguíneas función renal y hepática; se sugiere determinar: calcio, fósforo, cloro, sodio, potasio, glucosa en ayunas (con período de ayuno convenga a la especie), transaminasa glutámico-pirúvico sérica, transaminasa glutámico suero-oxalacética sérica, ornitina descarboxilasa, gamma glutamil transpeptidasa, nitrógeno, albúmina, creatinina plasmática, bilirrubina total y proteínas séricas totales. Una evaluación toxicológica adecuada incluye análisis de lípidos, hormonas, equilibrio ácido / base, metahemoglobina, actividad

colinesterasa. Se pueden incluir otros exámenes para extender la investigación de los efectos observados. El análisis de orina se requiere cuando se espera toxicidad. En relación a la necropsia, se debe examinar la superficie externa, todos los orificios y cavidades torácica y craneales. Para los animales de los grupos de tratamiento y control, se pesan hígado, riñones, gónadas y glándulas suprarrenales tan pronto se pueda luego de la disección. Los siguientes órganos y tejidos deberán conservarse para examen histopatológico: cerebro, hipófisis, tiroides, paratiroides, timo, pulmones, corazón, aorta, glándulas salivales, bazo, páncreas, vesícula biliar, intestinos, vejiga. Ganglio linfático y nervio periférico se examinan si se esperan signos de toxicidad. La histología se evalúa para todos los animales de grupos de prueba y control; ahora si no hubo cambios se puede realizar histología del grupo administrado con la dosis mayor. Todos los resultados tienen que tabularse en relación a cada animal y grupo correspondiente. Cuando los resultados sean numéricos se debe incluir análisis estadístico.

Tabla 22: Comparación OECD 411/EPA 870.3250

Parámetro	OECD 411/1981	EPA OPPTS 870.3250/1996
Período de Exposición	90 días	90 días
Especie	Rata/Conejo Conejillo de india	Rata/Conejo Conejillo de india
Edad	Jóvenes y saludables	Jóvenes y saludables
NO de animales por grupo	20 animales (10 hembras y 10 machos)	20 animales (10 hembras y 10 machos)
Grupos	Al menos 3 de prueba; 1 control y control de vehículo si corresponde.	Al menos 3 de prueba; 1 control y control de vehículo si corresponde.
Grupo satélite	Si	Si
Dosis prueba límite	1000 mg/kg/peso corporal/día	1000 mg/kg/peso corporal/día
Administración de sustancia	Uniformemente en sitio de administración por 6 horas/día 7 días a la semana por 90 días. Por efectos prácticos podría ser por 5 días a la semana.	Uniformemente en sitio de administración por 6 horas/día 7 días a la semana por 90 días. Por efectos prácticos podría ser por 5 días a la semana.
Observaciones clínicas	Por lo menos una vez al día.	Por lo menos una vez al día.

Consideraciones generales para evaluación de toxicidad por vía inhalatoria a dosis repetidas

a) Administración de dosis: Los animales se exponen a la sustancia de ensayo (gas, vapor, aerosol) por 6 horas por día durante 5 o 7 días por semana por 28/90 días. Los animales que mueren durante el estudio deben someterse a necropsia al igual que los sobrevivientes una vez que termine el estudio.

b) Selección de especie animal: Se utilizan roedores sanos jóvenes de cepas comunes de laboratorio, pero la especie preferida es la rata. Las hembras deben ser nulíparas y no preñadas.

c) Alojamiento y alimentación: Los animales deben estar identificados individualmente. La temperatura de la sala de experimentación debe ser de 22±3 °C. La humedad relativa debe estar entre 30 a 70 %, aunque esto no es posible cuando se utiliza agua como vehículo. Antes y después de la exposición, los animales permanecen en jaulas por grupos, por sexo y concentración, pero el

número de animales por jaula no deben interferir con la observación clara de cada animal. Cuando los animales son expuestos sólo por nariz, puede ser necesario que se aclimaten a los tubos de restricción. Los tubos de restricción pueden causar estrés o inmovilización a los animales, lo puede interferir en los resultados. Los animales expuestos por cuerpo completo a un aerosol deben ser alojados individualmente durante la exposición para evitar que se filtre el aerosol en estudio a través de otros animales que estén en la jaula. Se utilizan dietas convencionales y certificadas de laboratorio, excepto durante la exposición. El alimento y agua se disponen agua *ad libitum*. El fotoperiodo comprende 12hr/12hr luz/oscuridad.

d) Preparación de animales: Los animales entre 7 a 9 semanas de edad se distribuyen de manera aleatoria a los distintos grupos. Los pesos corporales deben estar dentro de $\pm 20\%$ del peso medio de cada sexo. Se mantienen en sus jaulas durante al menos 5 días antes del comienzo de la prueba para permitir su aclimatación a las condiciones de laboratorio.

e) Cámara de inhalación: Se elige dependiendo de la naturaleza de la sustancia de prueba y el objeto del estudio. Se prefiere la exposición de nariz (término que incluye sólo la cabeza, sólo la nariz o de sólo el hocico). Generalmente se opta por esta exposición para estudios de aerosoles líquidos o sólidos y vapores que pueden condensarse. No obstante, puede usarse la exposición de cuerpo completo, pero esto debe justificarse en el informe del estudio. Para asegurar la estabilidad atmósfera cuando se utiliza exposición de cuerpo completo el volumen por animal no debe superar el 5 % del volumen de la cámara.

El flujo de aire a través de la cámara debe ser cuidadosamente controlado, con seguimiento continuo y se registra al menos cada hora durante cada exposición. La supervisión de concentración de atmósfera en tiempo real (o la estabilidad temporal) es una medición integral de todos los parámetros dinámicos y proporciona un medio indirecto para controlar todos los parámetros dinámicos de inhalación. Si la concentración es monitoreada en tiempo real, la frecuencia de medición de los flujos de aire se puede reducir a una sola medición por exposición por día. La concentración de oxígeno debe ser de al menos 19% y la concentración de dióxido de carbono no debe exceder de 1%.

Siempre que sea posible, la concentración nominal de la cámara de exposición debe calcularse y registrarse. La concentración nominal es la masa de sustancia de prueba generada dividido por el volumen total de aire pasa a través del sistema de cámara de inhalación. La concentración nominal no se utiliza para caracterizar la exposición de los animales, pero una comparación de la concentración nominal y la concentración real da una indicación de la eficiencia de la generación del sistema.

La concentración real es la concentración de sustancia como en la zona de respiración de los animales en una cámara de inhalación. Se puede obtener ya sea por métodos específicos (por ejemplo, el muestreo directo, adsorción o métodos reactivos químicos, y caracterización analítica posterior) o por métodos no específicos tales como el análisis gravimétrico. Para demostrar la estabilidad del sistema se puede tener un dispositivo de monitorización en tiempo real, un fotómetro para aerosoles o un analizador de hidrocarburos totales para los vapores. La concentración real debe medirse por lo menos 3 veces durante cada día de exposición para cada nivel de exposición. Si no es factible, se podría aceptar una muestra por cada período de exposición. Las muestras no pueden desviarse de la concentración media de la cámara en $\pm 10\%$ para gases y

vapores, y por no más de $\pm 20\%$ para los aerosoles líquidos o sólidos. Se tiene que calcular el tiempo para alcanzar el equilibrio cámara (t_{95}) y se registra.

f) Concentraciones (Dosis): A diferencia de los estudios de toxicidad aguda, no hay concentración límite definida en estudios por inhalación subaguda. La concentración máxima probada debe considerar: la concentración máxima alcanzable, el "peor caso" nivel de exposición humana, la necesidad de mantener un suministro adecuado de oxígeno y/o consideraciones de bienestar animal. Antes de comenzar con el estudio principal, puede ser necesario realizar un estudio de determinación del intervalo de dosis, para lo que se utilizan tres animales por sexo y no debe durar menos de cinco días y no más de 14 días. Permite entregar información técnica, tamaño de partículas, descubrir mecanismos tóxicos y datos histopatológicos.

El nivel de concentración baja debe producir poca o ninguna evidencia de toxicidad; el nivel de concentración intermedia debe ser suficiente para producir efectos tóxicos. En cuanto a la concentración más alta debe dar lugar a efectos tóxicos, pero no causar síntomas persistentes o letalidad que impedirían una evaluación significativa.

Se necesita evaluar el tamaño de partícula para todos los aerosoles y vapores que pueden condensarse para formar aerosoles. Para permitir la exposición de todas las regiones pertinentes del tracto respiratorio, se recomiendan los aerosoles con diámetros aerodinámico mediano de masa (MMAD) que van de 1 a 3 micras con una desviación estándar geométrica (ag.) en el intervalo de 1,5 a 3.0. La distribución de tamaño de partícula de los aerosoles debe determinarse por lo menos semanalmente para cada nivel de concentración utilizando un impactador de cascada o un instrumento alternativo, como un medidor de partículas aerodinámico (APS).

Toxicidad subaguda por inhalación 28 días- Guía OECD 412/ 2009

Descripción del método: Estudio que permite caracterizar completamente la toxicidad de una sustancia de prueba por inhalación tras una exposición repetida por un período limitado de tiempo (28 días), y para proporcionar datos para las evaluaciones de riesgo de inhalación. Las concentraciones deben ser lo suficientemente bajas como para no causar dolor y malestar clínico significativo, sin embargo, debe permitir establecer una curva concentración-respuesta a los niveles que alcanzan el objetivo normativo y científico de la prueba. Las concentraciones tienen que evaluarse caso a caso, basándose preferentemente en un estudio de determinación de intervalo diseñado adecuadamente de manera que proporcione información sobre el criterio de valoración crítica, cualquier umbral de irritación y el momento de inicio.

Se deben utilizar al menos 10 animales por grupo (5 hembras y 5 machos); generalmente se seleccionan tres niveles de dosis un control negativo (aire) y un control de vehículo. Los animales del grupo control que tienen que ser manipulados de la misma forma que los animales pertenecientes al grupo de prueba. Se puede utilizar un grupo satélite de 5 hembras y 5 machos para observar la reversibilidad, persistencia o aparición tardía de la toxicidad por un período post-tratamiento de una longitud apropiada, pero no menos de 14 días. Los animales se exponen durante 6 horas, cinco o siete días a la semana por 4 semanas (28 días). Durante el tiempo de exposición los animales deben permanecer sin alimento, sin embargo, se puede proporcionar agua cuando los

animales se exponen por cuerpo completo. Cualquier modificación en cuanto a la especie o tiempo de exposición tiene que justificarse.

Las observaciones clínicas se realizan antes, durante y después del período de exposición, se registran individualmente para cada animal. Cuando la observación se dificulta por uso de tubos de retención o cámaras con poca luz, la observación se realiza post-exposición. Entre las observaciones tenemos: cambios en piel y pelaje, ojos y membranas mucosas y sistemas respiratorio, circulatorio, autonómico, central y actividad somatomotora, la medición de la temperatura rectal puede proporcionar evidencia de bradipnea hipo o hipertermia. Se pueden incluir biomonitoreo, función pulmonar, la retención de materiales poco solubles que se acumulan en el tejido pulmonar, y cambios de comportamiento. Antes de la primera exposición se registra el peso corporal, luego dos veces por semana partir del tratamiento y en el momento de eutanasia. Si no hay efectos en las primeras 2 semanas, los pesos corporales se pueden medir una vez a la semana durante el resto del estudio. El consumo de alimento y agua se mide semanalmente. Se lleva a cabo la necropsia para todos los grupos excepto para los animales los del grupo satélite que se mantienen en observación por 14 días. Además, se realizan pruebas clínicas entre ellas las hematológicas que involucran: hematocrito, hemoglobina, recuento de eritrocitos, leucocitos y plaquetas; tiempo de coagulación, tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina. En cuanto al análisis de bioquímica-clínica se encuentra: Glucosa, colesterol total, triglicéridos, urea bilirrubina, creatinina, proteínas totales, albúmina, globulinas, alanino aminotrasferasa, aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina, potasio, sodio, calcio, fósforo, cloro. El análisis de orina es opcional.

Cuando hay evidencia de que el tracto respiratorio inferior es el principal sitio de deposición y retención, se puede realizar lavado broncoalveolar (LBA) para evaluar alveolitis, la inflamación pulmonar y fosfolipidosis. Esto complementa la histopatología, pero no puede reemplazarla. Todos los animales, incluidos los que mueren, deben ser sometidos a exanguinación y necropsia macroscópica. Se debe examinar la superficie externa, todos los orificios y cavidades torácica y craneales. Se pesan cerebro, hígado, riñones, pulmones, corazón, bazo, timo, gónadas y glándulas suprarrenales tan pronto se pueda luego de la disección. Se mantienen en fijador adecuado para evaluar mediante histología la médula espinal, tiroides, paratiroides, esófago, glándulas salivales, estómago, intestinos, páncreas, tráquea, pulmones, aorta, gónadas y órganos accesorios, próstata, vejiga, ganglios linfáticos, nervio periférico, ojos y piel. Deben examinarse a lo menos cuatro tejidos nasofaríngeos, tres niveles de laringe, al menos dos secciones de tráquea. Los datos se presentan en tablas para cada grupo de prueba y animal (observaciones clínicas, pesos corporales, consumo de alimento, patología clínica, efectos macroscópicos, peso de órganos e histopatología). Si existe muerte temprana de animales se debe registrar tiempo de muerte, descripción y curso de efectos tóxicos, reversibilidad. Cuando los resultados sean numéricos se debe incluir análisis estadístico.

Toxicidad subcrónica por inhalación 90 días-Guía OECD 413/2009

Descripción del método: Los estudios de toxicidad por inhalación subcrónica se utilizan principalmente en un ámbito ocupacional para evaluar el riesgo de los trabajadores, exposición humana, transporte y riesgo ambiental. Este estudio permite caracterizar los efectos adversos tras la exposición por inhalación diaria repetida a una sustancia de prueba durante 90. Los datos

derivados de esta exposición se pueden utilizar para la evaluación de riesgos cuantitativos y para la selección de concentraciones para estudios crónicos.

Se usan al menos 20 animales por grupo (10 hembras y 10 machos); generalmente se seleccionan tres niveles de dosis un control negativo (aire) y un control de vehículo. Los animales del grupo control tienen que manipularse de igual manera que los animales pertenecientes al grupo de estudio. Se puede agregar un grupo satélite de 10 hembras y 10 machos para observar la reversibilidad, persistencia o aparición tardía de la toxicidad por un período post-tratamiento de una longitud apropiada, pero no menos de 14 días. Los animales se exponen durante 6 horas, cinco o siete días a la semana por 13 semanas (90 días). Durante la exposición los animales deben permanecer sin alimento, sin embargo se puede proporcionar agua cuando los animales se exponen por cuerpo completo. Cualquier modificación en cuanto a la especie o tiempo de exposición tiene que justificarse.

Las observaciones clínicas se registran de forma individual y se realizan antes, durante y después del período de exposición. Cuando la observación se dificulta por uso de tubos de retención o cámaras con poca luz, esta se realiza post-exposición. Entre las observaciones se debe registrar cambios en piel y pelaje, ojos y membranas mucosas y sistemas respiratorio, circulatorio, autonómico, central y actividad somatomotora, hay que poner atención en temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargia, sueño y coma. La medición de la temperatura rectal puede proporcionar evidencia de bradipnea hipo o hipertermia. Se pueden incluir biomonitoreo, función pulmonar, la retención de materiales poco solubles que se acumulan en el tejido pulmonar, y cambios de comportamiento. Los pesos corporales se registran antes de la primera exposición, dos veces por semana a partir del tratamiento y en el momento de eutanasia. Si no hay efectos en las primeras 2 semanas, los pesos corporales se pueden medir por semana durante el resto del estudio. El consumo de alimento y agua se mide semanalmente. Una vez antes de la primera exposición y al término del estudio se efectúa un examen oftalmológico de preferencia en todos los animales, o por lo menos en los que se administraron con la dosis mayor. Se realiza necropsia para todos los grupos excepto para los animales del grupo satélite que se mantienen en observación por lo menos por 14 días. Además, se realizan pruebas clínicas entre ellas las hematológicas que involucran: hematocrito, hemoglobina, recuento de eritrocitos, leucocitos y plaquetas; tiempo de coagulación, tiempo de protrombina y tiempo de trombolastina. En cuanto al análisis de bioquímica-clínica se evalúa: Glucosa, colesterol total, triglicéridos, urea bilirrubina, creatinina, proteínas totales, albúmina, globulinas, alanino aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina, potasio, sodio, calcio, fósforo, cloro. El análisis de orina es opcional. Cuando hay evidencia de que el tracto respiratorio inferior es el principal sitio de deposición y retención, se puede realizar lavado broncoalveolar (LBA) para evaluar alveolitis, la inflamación pulmonar y fosfolipidosis. Esto complementa la histopatología, pero no puede reemplazarla. Todos los animales, incluidos los que mueren durante el estudio, deben ser sometidos a exanguinación y necropsia macroscópica. Se debe examinar la superficie externa, todos los orificios y cavidades torácica y craneales. Se pesan cerebro, hígado, riñones, pulmones, corazón, bazo, timo, gónadas y glándulas suprarrenales tan pronto se pueda luego de la disección. Se mantienen en fijador adecuado para evaluar mediante histología la médula espinal, tiroides, paratiroides, esófago, glándulas salivales, estómago, intestinos, páncreas, tráquea, pulmones, aorta, gónadas y órganos accesorios, próstata, vejiga, ganglios linfáticos, nervio periférico, ojos y

piel. Deben examinarse a lo menos cuatro tejidos nasofaríngeos, tres niveles de laringe, al menos dos secciones de tráquea. Los datos se presentan en tablas para cada grupo de prueba y animal (observaciones clínicas, pesos corporales, consumo de alimento, patología clínica, efectos macroscópicos, peso de órganos e histopatología). Si existe muerte temprana de animales se tiene que registrar tiempo de muerte, descripción y curso de efectos tóxicos y reversibilidad. Cuando los resultados sean numéricos se debe incluir análisis estadístico.

Tabla 23: Comparación OECD 412/EPA 870.3465

Parámetro	OECD 412/2009	EPA OPPTS 870. 3465/1998
Período de Exposición	28 días	90 días
Especie	Preferentemente rata	Preferentemente rata
Edad	Jóvenes y saludables (7-9 sem)	Jóvenes y saludables (8-10 sem)
NO de animales por grupo	20 animales (10 hembras y 10 machos)	20 animales (10 hembras y 10 machos)
Grupos	Al menos 3 de prueba y 1 control y 1 control de vehículo	Al menos 3 prueba de y 1 control y 1 control de vehículo
Grupo satélite	Si	Si
Dosis prueba límite	No hay definida.	1 mg/L cuando es posible por propiedades fisicoquímicas de la sustancia.
Administración de sustancia	Por 6 horas por día durante 5 o 7 días por semana por 28 días.	Por 6 horas por día durante 5 o 7 días por semana por 90 días.
Observaciones clínicas	Antes, durante y post-exposición.	Durante y después de exposición.

Toxicidad sobre la reproducción y el desarrollo

La reproducción y el desarrollo comprenden una serie de procesos fisiológicos que involucran la producción de gametos, fertilización, implantación, organogénesis, desarrollo fetal, desarrollo postnatal y la maduración sexual. La toxicología de la reproducción incluye los trastornos sobre la fertilidad, tales como los efectos negativos sobre la libido, comportamiento sexual, espermatogénesis u ovogénesis, actividad hormonal o capacidad de fertilización o desarrollo de la misma hasta la fase de implantación. Además, incluye el efecto sobre el desarrollo de la descendencia como los efectos embriotóxicos o feto tóxicos, como: disminución del peso corporal, retraso del crecimiento y del desarrollo, lesiones en órganos, muerte, aborto, efectos estructurales (teratogénicos), defectos funcionales, defectos peri-postnatales, trastornos en lactancia y problemas del desarrollo físico y mental desde el nacimiento hasta el desarrollo de la pubertad (M.Repetto, G. Repetto;2009).

Tabla 24: Ensayos OCDE Toxicidad sobre la reproducción y el desarrollo

Guía OCDE	Ensayo	Fecha
414	Estudio de toxicidad en el desarrollo prenatal	22 enero 2001
415	Estudio de toxicidad para reproducción en una generación	26 mayo 1983
416	Estudio de toxicidad para reproducción en dos generaciones	22 enero 2001
421	Método de cribado de toxicidad sobre la reproducción y desarrollo	28 julio 2015
422	Estudio combinado de toxicidad, por dosis repetidas con cribado de toxicidad sobre la reproducción y desarrollo	28 julio 2015

Estudio de toxicidad en el desarrollo prenatal Guía OECD 414/2001

Descripción del método: Estudio que proporciona información general sobre los efectos de exposición prenatal al animal de prueba sobre el embarazo y en el organismo en desarrollo; esto puede incluir evaluación de los efectos maternos, así como la muerte, anormalidades estructurales o de crecimiento alterado en el feto.

a) Administración de dosis: La sustancia se administra a hembras preñadas al menos desde la implantación hasta un día antes del sacrificio programado en donde se realiza la cesárea. Los contenidos uterinos son examinados y se evalúan los tejidos blandos de los fetos y cambios esqueléticos.

b) Selección de especie animal: Se utilizan especies comúnmente usadas en laboratorio. Entre ellas la especie de roedor preferida es la rata y como no roedor el conejo. Si se utiliza cualquier otra especie debe ser justificado.

c) Alojamiento y alimentación: La temperatura de la sala experimental debe ser de 22 ± 3 °C para roedores y 18 ± 3 °C para conejos. La humedad relativa debe estar entre 30 y 70 %. El fotoperiodo

comprende 12hr/12hr luz/oscuridad. En cuanto a la alimentación se usan dietas convencionales de laboratorio y agua *ad libitum*. Se prefiere alojamiento individual para hembras preñadas.

d) Preparación de animales: Los animales deben ser jóvenes y saludables, sin tratamiento previo; se identifican con un número único. Las hembras tienen que ser nulíparas y no preñadas. Se aclimatan a las condiciones de laboratorio por lo menos por cinco días antes del tratamiento. Se caracteriza la especie, cepa, origen, sexo, cepa y edad; procurando que tengan peso y edad uniforme. Los animales se distribuyen de manera aleatoria a los distintos grupos. En cuanto al apareamiento se debe evitar cruces entre hermanos. Para roedores el día de gestación 0 es cuando se observan espermatozoides en frotis vaginal y para conejos es el día de coito o inseminación artificial.

e) Preparación de dosis: Si se usa un vehículo para la sustancia se debe conocer el efecto de este sobre la absorción, distribución, metabolismo y excreción de la sustancia, no debiera modificar la toxicidad de la sustancia de prueba ni el estado nutricional de los animales. El vehículo no debe presentar efectos tóxicos sobre el desarrollo o en la reproducción.

Cada grupo de prueba y control debe contener un número suficiente de hembras para dar lugar a aproximadamente 20 hembras. La mortalidad materna no invalida necesariamente el estudio siempre exceda el 10 %. Cuando se tenga información de que la sustancia no generaría pérdida preimplantación el tratamiento puede extenderse para incluir todo el período de gestación, desde el apareamiento al día antes de la cesárea. El manejo inadecuado de las hembras preñadas puede resultar en pérdida prenatal, por lo que debe evitarse la manipulación innecesaria y otros factores de estrés como el ruido. Se seleccionan al menos tres niveles de dosis y un control (sham o vehículo), que deben ser manipulados en las mismas condiciones que los animales tratados. En cuanto a las dosis se selecciona un intervalo en donde se induzca un efecto tóxico observable pero mínimo, sin muerte o sufrimiento animal. Se puede realizar una prueba límite cuando se espera que no existan efectos a dosis de 1000 mg/kg de peso/día, por lo que no se justificaría realizar tres niveles de dosis. La sustancia se administra diariamente por vía oral mediante intubación, en lo posible al mismo horario, ajustándose por el peso de los animales. Cuando se administra vía gavage es en una dosificación por sonda gástrica. El volumen máximo no debe exceder 1mL/100 gr de peso corporal del animal en el caso que se trate de una solución acuosa, puede ser de hasta 2 mL /100 gr de peso. Cuando se usa aceite de maíz como vehículo el volumen no debe exceder los 0.4 mL/100 gr de peso.

Las observaciones clínicas se realizan por lo menos una vez al día de preferencia a la misma hora. Se registra mortalidad, cambios de conducta y cualquier signo de toxicidad. Se realiza control de peso corporal el día 0 o a más tardar el día 3 post-apareamiento, al menos cada tres días durante la administración y el día de eutanasia. Se registra el consumo de alimento cada tres días y debe coincidir con el registro de peso corporal. Post eutanasia se lleva a cabo un examen macroscópico minucioso en busca de anomalías estructurales o cambios patológicos. Los úteros no grávidos se examinan por tinción adecuada y los grávidos se pesan. Se determina el número de cuerpos lúteos de las hembras preñadas. Se debe describir el grado de resorción. Para los fetos se evalúa sexo, peso corporal, alteraciones externas, alteración de tejidos blandos y óseos, malformaciones y examen del tracto reproductivo. Los datos se presentan tabulados de forma individual indicando para cada grupo de prueba y cada generación el número de animales en el inicio de la prueba, el número de animales encontrados muertos durante la prueba sacrificados, el momento de muerte o sacrificio, el número hembras preñadas, número de animales que presenten signos de toxicidad, descripción

de estos, incluyendo el tiempo de aparición, duración y gravedad de los efectos tóxicos, tipos de observaciones fetales y datos importantes de la camada. Los resultados numéricos deben evaluarse mediante un método estadístico adecuado.

Tabla 25: Comparación OECD 414/EPA 870.3700

Parámetro	OECD 414/2001	EPA OPPTS 870.3700/1998
Período de Exposición	Desde implantación hasta el día antes de la cesárea	Desde implantación hasta el día antes que se espera el parto.
Especie	Preferentemente: Roedor: rata No roedor conejo	Preferentemente: Roedor: rata No roedor conejo
Edad	Jóvenes	Jóvenes
NO de animales por grupo	Número suficiente de hembras para dar lugar a aproximadamente 20 hembras.	Número suficiente de animales para producir aproximadamente 20 animales.
Grupos	Al menos 3 de prueba y 1 control.	Al menos 3 de prueba y 1 control.
Grupo satélite	No	No
Dosis prueba límite	1000 mg/kg/peso corporal/día	1000 mg/kg/peso corporal/día
Administración de sustancia	Por vía oral mediante intubación.	Por vía oral mediante intubación.
Observaciones clínicas	Por lo menos una vez al día a la misma hora.	Por lo menos una vez al día a la misma hora.

Consideraciones generales para los estudios de una y dos generaciones.

a) Administración de dosis: La sustancia se administra en dosis graduadas a distintos grupos de machos y hembras. Los machos deben ser dosificados durante el crecimiento y por lo menos por un ciclo de espermatogénesis (aproximadamente 56 días en el ratón y 70 días en la rata). Las hembras deben ser dosificadas durante al menos dos ciclos estrales completos con el fin de provocar efectos adversos en celo. Posteriormente los animales se aparean (estos pertenecen a la generación P). La sustancia de ensayo se administra a los dos sexos durante el período de apareamiento y, posteriormente, sólo para hembras durante el embarazo y lactancia.

b) Selección de especie animal: Se usan ratas o ratones, para el estudio en una generación y para el de dos generaciones la especie que se prefiere es la rata. Si se utiliza otra especie deben realizarse modificaciones. No se deben utilizar cepas con baja fecundidad. Se caracteriza por especie, cepa, sexo, edad y peso.

c) Alojamiento y alimentación: La temperatura de la sala experimental debe ser de 22±3 °C. La humedad relativa debe estar entre 30 y 70 %. El fotoperiodo comprende 12hr/12hr luz/oscuridad. En cuanto a la alimentación se usan dietas convencionales de laboratorio y agua *ad libitum*. Las hembras preñadas deben permanecer en jaulas individuales.

d) Preparación de animales: Los animales deben ser jóvenes y saludables, sin tratamiento previo. Se aclimatan a las condiciones de laboratorio por lo menos por cinco días antes del tratamiento.

e) Preparación de dosis: Se recomienda administrar la sustancia en el agua o alimento, aunque puede realizarse por *gavage*. Si se usa vehículo, no debe interferir en el estudio. Se administra 7 días a la semana.

Estudio de toxicidad para reproducción en una generación- Guía OECD 415/ 1983

Descripción del método: Estudio que proporciona información general sobre efectos de una sustancia en el rendimiento reproductivo masculino y femenino, como: la función gonadal, ciclo estral, comportamiento de apareamiento, concepción, parto, lactancia y destete. También puede entregar información preliminar sobre los efectos tóxicos en el desarrollo, como: la morbilidad neonatal, mortalidad, comportamiento, teratogénesis y puede servir como una guía para pruebas posteriores.

Cada grupo de prueba y control debe contener un número suficiente de animales para producir cerca de 20 hembras preñadas a término o pretérmino. Se incluyen al menos tres grupos de prueba y un control, los animales pertenecientes a este grupo tienen que manipularse de igual forma que los animales tratados. En cuanto a las dosis, se selecciona un intervalo en donde se induzca un efecto tóxico observable pero mínimo, sin muerte o sufrimiento animal. Se puede realizar una prueba límite cuando se espera baja toxicidad con una dosis de 1000 mg/kg peso corporal/día.

Las observaciones clínicas se realizan una vez al día, incluyendo comportamiento, signos de dificultad en el parto y todos los signos de toxicidad incluyendo muerte. Durante el apareamiento el consumo de alimento se puede registrar semanalmente, pero en el embarazo se puede medir diariamente. Después del parto y durante la lactancia, la medición de consumo de alimento debe hacerse el mismo día que las camadas se pesan. El peso corporal se registra una vez a la semana. Cada camada debe examinarse tan pronto como sea posible después del parto registrándose número y sexo de las crías, muertas, vivas y presencia de anomalías. Las camadas se pesan un día después del nacimiento, los días 4 y 7 y cuando se termine el estudio. Se realiza necropsia examinando macroscópicamente en busca de anomalías estructurales con especial atención en los órganos reproductivos. Se debe realizar examen microscópico, mediante histología de ovarios, útero, cuello uterino, vagina, testículos, epidídimos, vesículas seminales, próstata, hipófisis y órganos de animales P que muestren cambios. Los datos se pueden resumir en forma de tabla que indique, para cada grupo, el número de animales al inicio, número de machos fértiles, el número de hembras preñadas, tipos de cambios y porcentaje de animales que presenten cada cambio. Cuando sea posible, los resultados numéricos deben ser evaluados por un método estadístico apropiado.

Estudio de toxicidad para reproducción en dos generaciones- Guía OECD 416/ 2001

Descripción del método: Estudio que proporciona información general en cuanto a los efectos de una sustancia de ensayo en la integridad y rendimiento de los sistemas reproductivos de hembras y machos. Incluyendo la función gonadal, el ciclo estral, el comportamiento de apareamiento,

concepción, gestación, parto, lactancia, destete y el crecimiento y desarrollo de las crías. También puede entregar información en cuanto a morbi-mortalidad de crías y considerar estos resultados como datos preliminares sobre la toxicidad del desarrollo prenatal y posnatal para pruebas posteriores. Se estudia el sistema reproductivo para la generación F1 y luego para F2. La administración se comienza en el grupo de animales parentales (P).

Cada grupo de prueba y control debe contener un número suficiente de animales para producir cerca de 20 hembras preñadas a término o pretérmino. Se incluyen al menos tres grupos de prueba y un control, los animales pertenecientes a este grupo tienen que manipularse de igual forma que los animales tratados. En cuanto a las dosis, se selecciona un intervalo en donde se induzca un efecto tóxico observable pero mínimo, sin muerte o sufrimiento animal. Los machos y hembras de la generación de padres (5-9 semanas de edad) deben ser dosificados durante el crecimiento, su apareamiento, en embarazos y en el destete de la primera generación. La administración de la sustancia se continúa a la descendencia de primera generación durante su crecimiento, en edad adulta, en apareamiento y hasta la producción de una segunda generación (hasta el destete). Se puede realizar una prueba límite cuando se espera baja toxicidad con una dosis de 1000 mg/kg peso corporal/día. Las observaciones clínicas se realizan una vez al día y una vez por semana se realiza un examen detallado. Los animales P y F1 se pesan el primer día de administración y por lo menos 1 vez a la semana. Las hembras de P y F1, se pesan los días de gestación 0, 7, 14 y 20 o 21, y durante la lactancia en los mismos días en que se pesan las camadas y el día de eutanasia. Durante el apareamiento y gestación se mide el consumo de por lo menos una vez por semana, lo mismo se realiza para el consumo de agua si la sustancia se administra en ella. Se evalúan normalidad y duración del ciclo estral en hembras P y F1 hembras por frotis vaginal antes del apareamiento, y opcionalmente durante el apareamiento, hasta que este se confirme. En el caso de los machos al final del estudio se pesan los testículos y epidídimos y se reservan para estudio histológico, además se realiza conteo de espermátidas, motilidad y morfología de los espermatozoides, para 10 machos; según métodos especificados en puntos 31,32 y 33 de la guía OECD. Cada camada debe examinarse tan pronto como sea posible después del parto registrándose número y sexo de las crías, muertas, vivas y presencia de anomalías. Las camadas se pesan un día después del nacimiento, los días 4 y 7, 14 y 21 y cuando se termine el estudio. Se registra la edad de la apertura vaginal y la separación del prepucio para F1, destetados y seleccionados para el apareamiento. Se mide distancia anogenital el día postnatal 0 para las crías F2 si hay alteración de proporción de sexos en F1 o en la maduración sexual. Se realiza necropsia examinando macroscópicamente en busca de anomalías estructurales con especial atención en los órganos reproductivos. Al término del estudio se determina peso corporal para P y F1 y de los siguientes órganos: útero, ovarios, testículos, epidídimos, próstata; vesículas seminales con glándulas de coagulación y sus fluidos, cerebro, hígado, riñones, bazo, pituitaria, tiroides, glándulas suprarrenales y los órganos diana de interés. Se registra peso corporal para las crías F1 y F2 que se seleccionan para necropsia y al azar se pesan cerebro, bazo y timo. Se debe realizar examen histopatológico completo para todos los órganos y tejidos enumerados para P y F1 en los grupos control y dosis alta. También se realiza examen histopatológico para las crías con alteraciones clínicas de F1 y F2 así como para uno al azar por camada, grupo y sexo. Los datos se pueden resumir en forma de tabla que indique, para cada grupo, generación, el número de animales al inicio, número de animales muertos o sacrificados, número de hembras preñadas, número de animales que presenten signos de toxicidad, describiendo los signos, incluyendo tiempo de aparición, duración y gravedad, cambios histopatológicos y todos los datos correspondientes a

la camada. Cuando sea posible, los resultados numéricos deben ser evaluados por un método estadístico apropiado.

Tabla 26: Comparación OECD 416/EPA 870.3800

Parámetro	OECD 416/2001	EPA OPPTS 870.3800/1998
Período de Exposición	Animales (P) antes y durante apareamiento, durante embarazos resultantes y destete de F1. En F1 durante crecimiento y edad adulta, apareamiento, y producción de generación F2, hasta el destete de esta última.	Animales (P) antes y durante apareamiento, durante embarazos resultantes y destete de F1. En F1 durante crecimiento y edad adulta, apareamiento, y producción de generación F2, hasta el destete de esta última.
Especie	Se prefiere rata	Se prefiere rata
Edad	Jóvenes saludables (5-9 sem) P	Jóvenes saludables (5-9 sem) P
NO de animales por grupo	Número suficiente de animales para producir cerca de 20 hembras preñadas.	Número suficiente de animales para producir cerca de 20 hembras preñadas.
Grupos	Al menos 3 de prueba y 1 control	Al menos 3 de prueba y 1 control
Grupo satélite	No	No
Dosis prueba límite	1000 mg/kg/peso corporal/día	1000 mg/kg/peso corporal/día
Administración de sustancia	Por alimento, agua o gavage 7 días a la semana.	Por alimento, agua o gavage 7 días a la semana.
Observaciones clínicas	Por lo menos una vez al día	Por lo menos una vez al día

Consideraciones generales para los estudios de cribado

a) Administración de dosis: La sustancia se administra en dosis graduadas a distintos grupos de machos y hembras. Los machos deben ser dosificados por un mínimo de cuatro semanas (esto incluye un mínimo de dos semanas antes del apareamiento, durante el período de apareamiento y, aproximadamente, dos semanas después del apareamiento). El examen histológico es esencial. Las hembras serán dosificadas durante todo el estudio. Esto incluye dos semanas antes del apareamiento (con el objetivo de cubrir al menos dos ciclos estrales completos), concepción, embarazo y al menos trece días después del parto, hasta la eutanasia. La duración del estudio es de aproximadamente 63 días.

b) Selección de especie animal: Se usan ratas. Si se utiliza otra especie roedora debe justificarse. Los animales deben ser vírgenes y saludables, sin tratamiento previo y se caracterizan por especie, raza, sexo, peso y edad. Al comienzo del experimento, la diferencia de peso de los animales utilizados debe ser mínima y no superar el 20% del peso medio de cada sexo.

c) Alojamiento y alimentación: La temperatura de la sala experimental debe ser de 22±3 °C. La humedad relativa debe estar entre 30 y 70. El fotoperíodo comprende 12hr/12hr luz/oscuridad. En cuanto a la alimentación se usan dietas convencionales de laboratorio y agua *ad libitum*. Las hembras preñadas deben permanecer en jaulas. Los animales se alojan en grupos pequeños de o más de 5 animales o individualmente si se justifica, por ejemplo, en el caso de las hembras preñadas

o hembras lactantes que se dejan con su camada. El alimento debe analizarse regularmente por contaminantes.

d) Preparación de animales: Los animales deben ser jóvenes y saludables se asignan al azar a los distintos grupos. Los animales se identifican individualmente y se mantienen en sus jaulas durante al menos cinco días antes del inicio del estudio para que se aclimaten a las condiciones de laboratorio.

e) Preparación de dosis: Se recomienda que la sustancia de ensayo se administre por vía oral por sonda. Sin embargo, como alternativa, la sustancia se puede administrar a través del alimento o agua. Se su usa vehículo se recomienda una solución acuosa, en segundo lugar, una oleosa y luego evaluar el uso de otros vehículos, para vehículos distintos que el agua se deben conocer las características tóxicas y se determina la estabilidad y homogeneidad de la sustancia de ensayo en el vehículo.

Método de cribado de toxicidad sobre la reproducción y desarrollo- Guía OECD 421/2015

Descripción del método: Este estudio entrega información inicial sobre los efectos posibles sobre la reproducción y / o el desarrollo, de sustancias químicas de interés. También puede ser utilizado como parte de un conjunto de pruebas de detección inicial, cuando hay poca información toxicológica de la sustancia, o para determinar un intervalo de dosis para estudios posteriores de reproducción o desarrollo.

La sustancia de ensayo se administra en dosis graduadas a distintos grupos de hembras y machos. Se recomienda que para cada grupo se puede comenzar al menos con 10 animales. Se incluyen al menos tres grupos de prueba y un control, los animales pertenecientes a este grupo tienen que manipularse de igual forma que los animales tratados. Los niveles de dosis pueden estar basados en información de pruebas de toxicidad aguda o en los resultados de los estudios de dosis repetidas. La sustancia de ensayo se administra por vía oral y diariamente 7 días a la semana. Se puede realizar una prueba límite cuando se espera baja toxicidad con una dosis de 1000 mg/kg peso corporal/día. Cuando se administra vía gavage es en una dosificación por sonda gástrica. El volumen máximo no debe exceder 1mL/100 gr de peso corporal del animal en al caso que se trate de una solución acuosa, puede ser de hasta 2 mL /100 gr de peso. Cuando la sustancia se administra en el alimento debe ser una dosis constante en relación al peso corporal (ppm). Las crías deben ser sacrificadas el día 13 después del parto, o poco después. Las observaciones clínicas se realizan una vez al día, preferentemente al mismo horario, se observan cambios de comportamiento, signos de dificultad en parto y todos los signos de toxicidad, incluyendo mortalidad. Estos registros deben incluir el tiempo de aparición, el grado y duración de los signos de toxicidad. Los animales se pesan el primer día de administración y semanalmente. Durante el embarazo, las hembras se pesan los días 0, 7, 14 y 20 y las 24 horas de parto, y al menos los días 4 días y 13 post-parto. Estas observaciones deben notificarse individualmente para cada animal adulto. El consumo de alimento y agua se registra por lo menos semanalmente. Se monitoriza el ciclo estral antes del tratamiento y hasta confirmación de apareamiento. Cada camada debe examinarse tan pronto como se pueda después del parto para establecer número y sexo de crías, mortinatos, neonatos, número de crías pequeñas y presencia de anomalías. Las crías deben contarse y sexarse y se pesan dentro de las 24 horas post-parto y al

menos los días 4 y 13. Se toman muestras de sangre al menos a dos crías por camada el día 4 después del nacimiento, de los órganos por lo menos dos crías por camada el día 13, y de todas las hembras y machos al término del estudio. Se evalúan niveles séricos de hormonas tiroideas y otras hormonas dependiendo del estudio. En el momento de eutanasia los animales se examinan macroscópicamente en busca de anomalías o cambios patológicos, especialmente los órganos del sistema reproductivo. Se registran los sitios de implantación y se examinan los frotis vaginales para verificar si la etapa del ciclo concuerda con la histología de útero y ovarios. En el caso de los machos se pesan los testículos, epidídimos, el músculo elevador del ano, bulbocavernoso, glándulas de Cowper, glándula y pene. Las crías se examinan cuidadosamente para registrar anomalías, especialmente los órganos reproductivos externos. Se conserva la tiroides de un macho y hembra por camada. Cualquier órgano que presente anomalía se conserva para evaluación histopatológica. El estudio histológico se realiza para ovarios y epidídimo para los animales dosificados con la dosis más alta y para los animales pertenecientes al grupo control. Los otros órganos conservados incluyendo la tiroides de adultos y crías pueden ser examinados cuando sea necesario. Los datos se resumen en tablas indicando, para cada grupo de ensayo el número de animales al inicio de la prueba, número de animales muertos o sacrificados por signo de toxicidad, momento de muerte, número de animales fértiles, número de hembras preñadas, número de animales que presenten signos de toxicidad, incluyendo el tiempo de aparición, duración, gravedad de los efectos tóxicos y tipos de cambios histológicos. Cuando sea posible, los resultados numéricos deben ser evaluados por un método estadístico apropiado.

Tabla 27: Comparación OECD 421/EPA 870.3550

Parámetro	OECD 421/2015	EPA OPPTS 870.3550/2000
Período de Exposición	Machos: al menos por 4 semanas. Hembras: se exponen durante todo el estudio.	Machos: al menos por 4 semanas. Hembras: se exponen durante todo el estudio.
Especie	Rata	Rata
Edad	Jóvenes saludables	Jóvenes saludables
NO de animales por grupo	Al menos 10 hembras y 10 machos por grupo.	Al menos 10 hembras y 10 machos por grupo.
Grupos	Al menos 3 de prueba y 1 control	Al menos 3 de prueba y 1 control
Grupo satélite	No	No
Dosis prueba límite	1000 mg/kg/peso corporal/día	1000 mg/kg/peso corporal/día
Administración de sustancia	Por alimento, agua o gavage 7 días a la semana.	Por alimento, agua o gavage 7 días a la semana.
Observaciones clínicas	Por lo menos una vez al día a la misma hora	Por lo menos una vez al día a la misma hora

Estudio combinado de toxicidad, por dosis repetida con cribado de toxicidad sobre la reproducción y desarrollo-Guía OECD 422/2015

Descripción del método: Este estudio proporciona información sobre los posibles riesgos para la salud que puedan derivarse de la exposición repetida durante un período relativamente limitado de tiempo. Además involucra una prueba de detección de toxicidad para desarrollo y reproducción, por lo que se puede utilizar para entregar información inicial sobre posibles efectos de la sustancia

en rendimiento reproductivo, función gonadal, comportamiento de apareamiento, concepción, desarrollo del embrión y en el parto.

La sustancia de ensayo se administra en dosis graduadas a distintos grupos de hembras y machos. Se recomienda que para cada grupo se puede comenzar al menos con 10 animales. Se incluyen al menos tres grupos de prueba y un control, los animales pertenecientes a este grupo tienen que manipularse de igual forma que los animales tratados. Se puede incluir un grupo satélite para realizar seguimiento y deben mantenerse durante 14 días después de la eutanasia. La sustancia de ensayo se administra por vía oral y diariamente 7 días a la semana. Se puede realizar una prueba límite cuando se espera baja toxicidad con una dosis de 1000 mg/kg peso corporal/día. Cuando se administra vía gavage es en una dosificación por sonda gástrica. El volumen máximo no debe exceder 1mL/100 gr de peso corporal del animal en el caso que se trate de una solución acuosa, puede ser de hasta 2 mL /100 gr de peso. Cuando la sustancia se administra en el alimento debe ser una dosis constante en relación al peso corporal (ppm).

Las observaciones clínicas se realizan una vez al día, preferentemente al mismo horario y por lo menos una vez al día y se observa morbi-mortalidad dos veces al día. Una vez antes de la primera exposición y al menos una vez a la semana se hace una observación clínica detallada, se observan y registran: cambios en la piel, pelaje, ojos, mucosas, presencia de secreciones y excreciones y actividad neurovegetativa (por ejemplo, lagrimeo, piloerección, tamaño de la pupila, respiración anómala). Cambios en la marcha, postura y respuesta a la manipulación, así como la presencia de movimientos clónicos o tónicos, estereotipados, parto prolongado. En algún momento del estudio se debe evaluar la reactividad sensorial a estímulos de diferentes, fuerza de presión y actividad motriz en cinco machos y cinco hembras, seleccionados al azar de cada grupo. Durante el embarazo, las hembras se pesan los días 0, 7, 14 y 20 y las 24 horas de parto, y al menos los días 4 días y 13 post-parto. El consumo de alimento y agua se registra por lo menos semanalmente. Una vez durante el estudio, se toma muestra de sangre en 5 hembras y 5 machos al azar para evaluar hematocrito, hemoglobina, recuento de eritrocitos, reticulocitos, recuento total y diferencial de leucocitos, recuento de plaquetas y una medida del tiempo de coagulación. Se determina bioquímica clínica para 5 animales de cada sexo al azar y se evalúa: sodio, potasio, glucosa, colesterol total, urea, creatinina, proteínas totales y albúmina, al menos dos enzimas indicadoras de los efectos hepatocelulares y bilirrubina. Se toman muestras de sangre al menos a dos crías por camada el día 4 después del nacimiento, de los órganos por lo menos dos crías por camada el día 13 y de todas las hembras y machos al término del estudio. El urianálisis es optativo. En el momento de eutanasia los animales se examinan macroscópicamente la superficie externa todas las cavidades, craneales, torácica, abdominal y sus contenidos, se debe prestar atención mayor a los órganos reproductores. Se registra el número de sitios de implantación. Los frotis vaginales deben ser examinados en el día de la necropsia para determinar la etapa del ciclo estral y permitir correlación con la histopatología de los órganos reproductivos femeninos. En el caso de los machos se pesan los testículos, epidídimos, el músculo elevador del ano, bulbocavernoso, glándulas de Cowper, glande y pene. Las crías se examinan cuidadosamente para registrar anomalías, especialmente los órganos reproductivos externos. Se conserva la tiroidea de un macho y hembra por camada y también para estudio histológico el cerebro, médula espinal, ojos, estómago, intestino delgado y grueso, hígado, riñones, glándulas suprarrenales, bazo, corazón, timo, tráquea y pulmones, gónadas (testículos y ovarios), órganos sexuales secundarios (útero y el cuello uterino, epidídimos, próstata, vesículas

seminales más glándulas coagulantes), vagina, vejiga, ganglios linfáticos, nervio periférico, músculo. Los datos se resumen en tablas indicando, para cada grupo de ensayo el número de animales al inicio de la prueba, número de animales muertos o sacrificados por signo de toxicidad, momento de muerte, número de animales fértiles, número de hembras preñadas, número de animales que presenten signos de toxicidad, incluyendo el tiempo de aparición, duración, gravedad de los efectos tóxicos y tipos de cambios histológicos. Cuando sea posible, los resultados numéricos deben ser evaluados por un método estadístico apropiado.

Tabla 28: Comparación OECD 422/EPA 870.3650

Parámetro	OECD 422/2015	EPA OPPTS 870.3650/2000
Período de Exposición	Machos: al menos por 4 semanas. Hembras: se exponen durante todo el estudio.	Machos: al menos por 4 semanas. Hembras: se exponen durante todo el estudio.
Especie	Rata	Rata
Edad	Jóvenes saludables	Jóvenes saludables
NO de animales por grupo	Al menos 10 hembras y 10 machos por grupo.	Al menos 10 hembras y 10 machos por grupo.
Grupos	Al menos 3 de prueba y 1 control	Al menos 3 de prueba y 1 control
Grupo satélite	Si	Si
Dosis prueba límite	1000 mg/kg/peso corporal/día	1000 mg/kg/peso corporal/día
Administración de sustancia	Por alimento, agua o gavage 7 días a la semana.	Por alimento, agua o gavage 7 días a la semana.
Observaciones clínicas	Por lo menos una vez al día a la misma hora.	Por lo menos una vez al día a la misma hora.

Métodos alternativos:

Como procedimientos alternativos para evaluar embriotoxicidad, el Centro Europeo para la Validación de métodos alternativos validó el 2001 tres estudios (M.Repetto, G. Repetto;2009):

- Ensayo *in vitro* con células embrionarias de ratón que permite distinguir entre compuestos moderados, fuertes y no embriotóxicos. No se necesitan animales, por lo que en la actualidad es la mejor opción.
- Cultivo de embrión completo de rata que involucra la misma aplicación que el estudio anterior, pero con el uso de roedores.
- Ensayo con cultivo de células disociadas de encéfalo de embrión de rata en micromasas, que identifica embriotóxicos potentes.

Ensayos de Carcinogenicidad

Las sustancias químicas se definen como carcinogénicas si inducen tumores, aumentan la incidencia de tumores o acortan el tiempo de su ocurrencia. Los tumores benignos que pueden tener potencial de progresar en tumores malignos son considerados en conjunto a los tumores malignos. Las sustancias pueden inducir cáncer por cualquier ruta de exposición, sin embargo, el potencial carcinogénico y la potencia pueden depender de las condiciones de exposición. Los carcinógenos pueden ser identificados a partir de estudios epidemiológicos, experimentación en animales o mediante la aplicación de modelos de relación estructura-actividad (ECHA, 2015).

El proceso de la carcinogénesis involucra la transición de células normales a cancerígenas mediante una secuencia de etapas que involucran alteraciones genéticas y/o no genéticas. Los eventos no genéticos se definen como aquellos cuyas alteraciones no involucran mecanismos efectos sobre la secuencia del ADN, sin embargo, se traducen en un aumento en la incidencia de cáncer o disminución en el tiempo de latencia para la aparición de tumores como es el caso de moduladores de la expresión génica o factores angiogénicos. Por esta razón, tradicionalmente los agentes cancerígenos se dividen en dos categorías de acuerdo a su mecanismo de acción: cancerígenos genotóxicos y no genotóxicos. El mecanismo genotóxico involucra cambio en la secuencia primaria del ADN mientras que los no genotóxicos incluyen aquellos cambios epigenéticos. Se asume que los efectos de aquellos carcinogénicos no genotóxicos pueden tener un umbral (ECHA, 2015).

Los estudios de carcinogenicidad (de largo plazo o de por vida) en animales usualmente son llevados a cabo en ratas o ratones asignados aleatoriamente a los grupos de experimentación, expuestos, vía oral, dérmica o inhalatoria. La ruta de exposición seleccionada depende en gran medida de la ruta de exposición prevista o relevante para los humanos.

Las directrices utilizadas por la *US Office of Pesticide Programs (OPP)* y la *Office of Pollution Prevention and Toxics (OPPT)* para la evaluación de carcinogenicidad han sido armonizadas con aquellas de la OCDE.

Los estudios de carcinogenicidad se llevan a cabo para determinar el potencial carcinogénico y la relación dosis-respuesta de la sustancia a investigar. Estos ensayos generan información sobre la producción de tumores como también lesiones neoplásicas y otros indicadores de toxicidad crónica que pueden proveer evidencia de efectos relacionados al tratamiento e indicadores del mecanismo de carcinogénesis. Dado que el desarrollo de tumores se relaciona con la edad y que se requiere un gran número de animales para detectar estos efectos, los estudios se llevan a cabo en roedores (usualmente ratas y ratones). Los ratones son generalmente expuestos por 18 a 24 meses mientras que las ratas de 24 a 30 meses. Sin embargo, bajo el ensayo OECD 451, el estudio puede ser terminado si la sobrevivencia de la dosis menor o el control disminuye a un 25% mientras que el ensayo US EPA 870.4200 especifica que la sobrevivencia de cualquier grupo no puede descender bajo el 50% a los 15 meses en el caso de los ratones y 18 meses en el caso de las ratas, o bajo 25% a 18 y 24, respectivamente. En estos estudios, las observaciones se realizan a lo menos una vez a la semana, los cambios clínicos incluyen: palpación para detectar masas tumorales y control de peso, además se registra el consumo de alimento durante el primer mes. Se realiza estudio hematológico por lo menos dos veces y todos los animales se someten a necropsia y estudio histopatológico de todos los órganos al menos al en el grupo control y en la dosis mayor.

Ensayos de Ecotoxicidad

Actualmente muchos de los residuos de las actividades humanas son eliminados en cuerpos de agua continental y marina. La incorporación de los principios ecológicos, en conjunto a consideraciones de orden físico, químico, e hidrológico, entre otras, tienden a identificar los efectos de las actividades antropogénicas en este medio y, en lo posible, cuantificarlos y proponer medidas tendientes a minimizar sus impactos negativos en los sistemas naturales.

La ecotoxicología puede ser definida como "la rama de la toxicología enfocada en el estudio de efectos tóxicos causados por contaminantes naturales y sintéticos, sobre los componentes de los ecosistemas, animales, vegetales y microbiota, en un contexto integral" (Truhaut 1977). Chapman (2002) propuso un enfoque centrado más en la ecología, por lo que define ecotoxicología como "ecología en presencia de tóxicos". En ambos casos, su objetivo es predecir efectos de estresores (antropogénicos o de otro origen) sobre poblaciones naturales, comunidades o ecosistemas. Integra, por tanto, el efecto de estresores a través de todos los niveles de organización biológica, desde el molecular a la comunidad completa y ecosistemas (Maltby & Naylor 1990).

Las pruebas de toxicidad son herramientas útiles para la evaluación de la capacidad de un material de causar efectos adversos (letales o sub-letales) en organismos vivos acuáticos, esto debido a que son indicadores sensibles y ecológicamente relevantes (NCh2083). En este tipo de procedimiento, las respuestas (fisiológicas, demográficas o poblacionales) de organismos acuáticos son usadas para detectar o medir la presencia o efecto de una o más sustancias, desechos o factores ambientales, solos o combinados. Los efectos de los tóxicos en los componentes de un ecosistema son a menudo medidos en un amplio rango de niveles, desde el molecular hasta completamente ecosistémico (Newman 1995).

Una utilizada herramienta de análisis de este efecto son los **bioensayos**. Un bioensayo es un procedimiento que permite determinar la concentración, pureza y/o actividad biológica de una sustancia, a través de la medición de su efecto sobre una población biológica, organismos, o tejidos biológicos relativo a una preparación estándar (APHA et al. 2006). Para los efectos de la normativa chilena, se les define como "la medición del efecto de sustancias tóxicas sobre organismos vivos" (NCh2083).

Los bioensayos tradicionalmente se han categorizado según los efectos tóxicos que miden. Un estímulo agudo es aquel suficientemente severo para inducir rápidamente un efecto. En los tests de toxicidad acuática, un efecto observado en 96 h o menos es típicamente considerado agudo. En toxicología acuática un efecto agudo no siempre es medido en términos de letalidad (EPA 1991). En contraposición, crónico es un estímulo que continúa por un período relativamente largo de tiempo, a menudo 1/10 del ciclo de vida o más. "Crónico" debería ser considerado un término relativo dependiendo de la esperanza de vida de un organismo. La medida de un efecto crónico puede ser el crecimiento reducido, reproducción reducida, además de la letalidad (EPA 1991).

Tanto la toxicidad aguda como la toxicidad crónica son generalmente medidas usando pruebas con múltiples concentraciones, consistentes en un control y un mínimo de cinco concentraciones de prueba. El objetivo de la primera es generar información dosis-respuesta, expresado como la

concentración de sustancia o concentración porcentual de efluente que es letal para el 50% de los organismos probados (LC50), dentro del período de tiempo prescrito (24-96 h). El ensayo crónico, en cambio, está diseñado para proveer información dosis-respuesta, expresado como la concentración de sustancia o concentración porcentual de efluente que afecta la eclosión, sobrevivencia, normal morfología, crecimiento y/o reproducción, dentro del período de tiempo prescrito (4-7 días) (EPA 2002).

La elección del bioensayo apropiado debe basarse en varias consideraciones, como por ejemplo: debe ser simple y de bajo costo, debe ser preciso, es decir, debe permitir diferenciar entre tratamientos con grados de precisión, los organismos a emplear deben ser fácilmente mantenidos en condiciones de laboratorio, debe incluir organismos sobre los que se tenga conocimiento acabado de sus ciclos de vida y de sus requerimientos de cultivo y de manejo.

A pesar del amplio uso de ensayos mono-específicos, se recomienda considerar una batería de bioensayos, ya que no todas las especies presentan igual sensibilidad, es así que para una misma sustancia química, algunas especies resultan muy sensibles y otras presentan una gran tolerancia. En lo posible esta batería de bioensayos debe incluir organismos que representen los distintos niveles de la cadena trófica. El uso de microalgas es apropiado debido a que son un componente importante en cualquier medio acuático y son consumidas por diversos grupos. Un segundo grupo muy diverso son los invertebrados herbívoros, entre los cuales se destacan los cladóceros. Los peces deberían ser considerados en toda batería de bioensayos ya que representan el nivel superior de una trama trófica y es el indicador más directo sobre las condiciones imperantes en una comunidad acuática, además de permitir análisis biológicos más elaborados.

A continuación, se describen resumidamente tres ensayos agudos ampliamente utilizados en ecotoxicología acuática, basados en procedimientos descritos por la OECD.

Ensayo agudo de toxicidad en embriones de peces – Guía OECD 236

Especie: Pez zebra (*Danio rerio*)

Descripción del método: Huevos de pez cebra recién fertilizados se exponen a la sustancia de prueba durante un período de 96 horas. Cada 24 horas se registran observaciones de cuatro indicadores de letalidad: (i) coagulación de huevos fertilizados, (ii) la falta de formación de somitos, (iii) no desprendimiento de la cola desde el saco vitelino y (iv) la falta de latido. Al final del período de exposición, la toxicidad aguda se determina basándose en un resultado positivo en cualquiera de las cuatro observaciones apicales registradas, y se calcula la LC50.

Veinte embriones por concentración (con un embrión por pocillo) son expuestos a la sustancia de prueba. La exposición debe ser tal que $\pm 20\%$ de la concentración química nominal se mantenga durante toda la prueba. Si esto no es posible en un sistema estático, deberá aplicarse un intervalo de renovación semi-estática (por ejemplo, la renovación cada 24 horas). En estos casos deberán verificarse las concentraciones de exposición al principio y al final de cada intervalo de exposición.

Normalmente se requieren cinco concentraciones de la sustancia de prueba espaciadas por un factor constante no mayor de 2,2 para satisfacer las necesidades estadísticas. En la concentración

más alta probada debe observarse preferentemente 100% de letalidad, y en la concentración más baja ensayada debe preferentemente obtenerse ningún efecto observable.

Junto con las concentraciones de prueba, se requieren un control negativo con agua de dilución y los controles internos de placa. Un control positivo a una concentración fija de 4 mg/L de 3,4-dicloroanilina se realiza con cada contenedor de huevos utilizada para la prueba. En caso de que se utilice un solvente, un grupo adicional de 20 embriones se expone a un control de solvente en una placa de 24 pocillos. Para considerar la prueba aceptable, se debe demostrar que el solvente no genera efectos significativos en el momento de eclosión, la supervivencia, ni producir otros efectos adversos en los embriones.

Para que los resultados de las pruebas sean válidos, la OECD sugiere aplicar los siguientes criterios:

- La tasa de fertilización general de todos los huevos recogidos debe ser $\geq 70\%$ en cada contenedor analizado.
- La temperatura del agua debe mantenerse constante a $26 \pm 1^\circ\text{C}$.
- La supervivencia global de los embriones en el control negativo (agua de dilución) y, en el caso de haberlo, en el control de disolvente, debe ser $\geq 90\%$ hasta el final de la exposición de 96 horas.
- La exposición al control positivo (por ejemplo, 4,0 mg/L de 3,4-dicloroanilina para el pez cebra) debería dar como resultado una mortalidad mínima del 30% al final de la exposición de 96 horas.
- La tasa de eclosión en el control negativo (y en el control de disolvente si aplica) deben ser $\geq 80\%$ al final de la exposición de 96 horas.
- Al final de la exposición de 96 horas, la concentración de oxígeno disuelto en el control negativo y en la mayor concentración de prueba debe ser $\geq 80\%$ de saturación.

Ensayo de Inmovilización aguda de Daphnia sp-Guía OECD 202

Especie: *Daphnia magna* o *Daphnia pulex*

Descripción del método: Individuos juveniles (< 24 h de edad al inicio del ensayo e idealmente no de la primera camada de la progenie) son expuestos a la sustancia de prueba en un rango de concentraciones por un período de 48 h. La inmovilización de los individuos es registrada a las 24 y 48 h y se compara con valores control. Estos resultados son utilizados para calcular la EC50 a las 48 h y, opcionalmente, a las 24 h.

Una sustancia de referencia debe ser probada para el cálculo de EC50, como un medio para asegurar que las condiciones del ensayo son fiables. Estas pruebas deben ser realizadas preferentemente cada mes y al menos dos veces al año.

Como medio de cultivo para mantención y experimental puede utilizarse agua natural (superficial o subterránea), agua reconstituida o agua potable declorada, siempre que aseguren la sobrevivencia durante la duración del cultivo, la aclimatación y pruebas sin evidenciar signos de estrés. La preparación de agua reconstituida se puede hacer mediante la adición de cantidades específicas de reactivos de grado analítico al agua desionizada o destilada. El pH debe mantenerse en el rango de

6 a 9, mientras que la dureza del agua debe estar ser de entre 140 y 250 mg/L (como CaCO₃) para *Daphnia magna*, mientras que valores menores deben ser usados para otras especies de *Daphnia*.

Al menos 20 animales, preferiblemente divididas en cuatro grupos de cinco animales cada uno, se deben utilizar en cada concentración de ensayo y para los controles. Los animales serán inoculados en densidad de 5 individuos/10 mL por recipiente de ensayo. La prueba puede llevarse a cabo utilizando la renovación semi-estática o el sistema de flujo continuo cuando la concentración de la sustancia de ensayo no es estable.

Un mínimo de cinco concentraciones en serie geométrica serán testeadas, separadas entre sí con un factor no superior a 2,2. La concentración más alta ensayada debe resultar preferentemente en 100% de inmovilización y la concentración más baja no debería evidenciar ningún efecto observable.

Para que una prueba sea válida, se aplicarán los siguientes criterios de actuación:

- La respuesta (inmovilización) obtenida en el control, incluido el control que contiene el agente de disolución, no debe superar el 10%.
- La concentración de oxígeno disuelto al final de la prueba debe ser ≥ 3 mg/L en los vasos control y de prueba.

Ensayo de Inhibición del crecimiento de algas de agua dulce y cianobacterias-Guía OECD 201

Descripción del método: El propósito de este ensayo es determinar los efectos de una sustancia sobre el crecimiento de microalgas de agua dulce y/o cianobacterias. Cultivos en crecimiento exponencial son expuestos a la sustancia de prueba durante un período de 72 horas.

La respuesta observada del sistema es la reducción del crecimiento en una serie de cultivos de algas (unidades de prueba) expuestas a varias concentraciones de una sustancia. La respuesta se evalúa como una función de la concentración de la exposición en comparación con la media de crecimiento de cultivos de control no expuestos. Para la expresión completa de la respuesta a los efectos tóxicos (sensibilidad óptima), se permite que los cultivos alcancen un crecimiento exponencial, bajo condiciones suficientes de nutrientes y luz continua durante un periodo de tiempo suficiente para medir la reducción de la tasa de crecimiento específico.

El crecimiento y la inhibición del crecimiento se cuantifican a partir de mediciones de la biomasa de algas, o más frecuentemente recuento de células, como una función del tiempo. El punto final del ensayo es la inhibición del crecimiento, expresado como el incremento logarítmico de la biomasa (tasa media de crecimiento específico) durante el período de exposición. A partir de las tasas de crecimiento medias específicas registradas en una serie de soluciones de prueba, la concentración que produce un x% de inhibición de la tasa de crecimiento específico (por ejemplo, 50%) se determina y se expresa como la EC_{tx} (por ejemplo, EC₅₀).

Exhaustivamente se han desarrollado pruebas de toxicidad aguda y crónica sobre organismos planctónicos, entre ellos se mencionan: efecto de metales pesados sobre poblaciones de rotíferos (Rao & Sarma 1986, 1990, Luna-Andrade et al 2002, Gama-Flores et al 2007); efecto de pesticidas sobre rotíferos (Gama-Flores et al 1999, 2004, Sarma et al 1998, Sarma et al 2001a, 2001b, 2001c);

efecto de insecticidas sobre copépodos (Johnson 1978); efecto de enriquecimiento orgánico sobre cladóceros (Martínez-Jerónimo & García-González 1994, Mangas-Ramírez et al 2002); efecto de metales pesados en sedimentos sobre poblaciones de cladóceros (Burton et al. 2001, Lahr et al. 2003,); entre otros. Dada la facilidad de cultivo y las respuestas sensibles a diversidad de agentes, este tipo de ensayos se encuentra ampliamente validado.

A pesar de ello, una crítica común al uso de bioensayos es la desvinculación entre efectos de contaminantes sobre los niveles de organización celular/molecular y orgánico y sus posibles consecuencias en los niveles de organización superior (Bridges & Dillon 1993). Caswell (1996) ha señalado al respecto que los procesos ecológicos en cierto nivel jerárquico son determinados por mecanismos presentes en niveles inferiores, y cuya respuesta se evidencia en un nivel inmediatamente superior.

Un desafío corriente en ecotoxicología es predecir el impacto subletal e interespecífico que generan muy bajas concentraciones de un químico mantenido por largos períodos, con consecuencias sobre las comunidades de organismos, es decir, interespecíficos. Para indagar estos efectos, en condiciones ideales se deberían realizar ensayos crónicos multiespecíficos, lo que es virtualmente imposible, dado que (1) no existen pruebas estandarizadas para tales diseños y (2) demandaría un esfuerzo difícil de costear. Sin embargo, es posible considerar un procedimiento gradual, comenzando con ensayos más simples y terminando en aquellos diseños más complejos, multiespecíficos y test de campo para aquellos pocos compuestos seleccionados que sean relevantes en su uso y que hayan sido señalados como potencialmente peligrosos para el ambiente.

Para abordar comprehensivamente estos fenómenos, la OECD propone la realización de distintos tipos de ensayos:

1. Ensayos de corta duración con especies aisladas,
2. Ensayos de larga duración con especies aisladas,
3. Ensayos multiespecíficos,
4. Ensayos infra-organismos (cultivos de tejidos y celulares)

Los ensayos más simples permiten identificar la naturaleza de los efectos observados y obtener estimaciones preliminares de rangos de concentraciones en los cuales estos efectos son observados.

En los experimentos de campo, los test ecotoxicológicos deben ser considerados para asegurar que las concentraciones sean mantenidas constantes durante largos períodos de tiempo. Para organismos acuáticos se distinguen:

- Test estáticos, donde el químico es añadido en una oportunidad al sistema de prueba,
- Test semi-estáticos, donde medio y compuesto son reemplazados periódicamente,
- Test en flujo (continuo o intermitente), donde el medio y el compuesto de prueba son suministrados a una tasa y concentración constante

Contaminantes químicos son ubicuos en la naturaleza y uno de los principales objetivos de los ecólogos ha sido comprender y predecir sus impactos sobre comunidades naturales. Mientras efectos tóxicos directos pueden ser evaluados mediante estudios de laboratorio en una única

especie, la evaluación completa de los posibles efectos sólo puede ser observada cuando los organismos están insertos dentro de una comunidad.

Revisiones sobre el uso de grupos emblemáticos en ecotoxicología ha sido realizados en años recientes (Fleeger et al. 2003; Sarma & Nandini 2006; Relyea & Hoverman 2006; Snell & Joaquim-Justo 2007). De estas revisiones se concluye que el trabajo en herbívoros, principalmente cladóceros y *Daphnia* es predominante en la literatura, utilizándose sólo unos pocos géneros y especies de manera repetida para estudios ecotoxicológicos a escala mundial. Esto evidencia dos objetivos aparentemente en conflicto entre sí: perspectiva mundial vs nacional (o incluso local): elegir una especie ampliamente utilizada (por ejemplo, *Daphnia magna*), no necesariamente satisface las necesidades locales, además de no ser sensible a todas las sustancias tóxicas. Además de aquello, se evidencia la naturaleza y el alcance del impacto de posibles disruptores endocrinos sobre invertebrados. De hecho, rotíferos parecen ser particularmente sensibles a sustancias andrógenas y anti-antiandrogénicas, mientras que los copépodos y cladóceros son típicamente más afectados por los estrógenos y compuestos similares a la hormona juvenil. La interferencia de adición de tóxicos con las interacciones ecológicas, como la depredación y la competencia, requieren aún más investigación, así como el impacto de variación interespecífica e interclonal en los ensayos ecotoxicológicos.

Uso de sistemas multi-específicos

Expertos señalan fuertemente que el uso de una única especie de prueba estándar para ser usada en ensayos ambientales es irracional debido a que implicaría una exactitud inexistente y, aún más, es contrario a la filosofía del modelo sistémico usado de ecotoxicología.

La razón por la cual es necesario el uso de más de una especie es que la variación de sensibilidad entre especies a un tipo de tóxico químico, no necesariamente coincide con la sensibilidad a otro tipos de sustancias.

Tampoco es práctico prescribir sólo una especie de prueba para ser usada alrededor del mundo, ya que dichas especies podrían no estar disponibles en todas partes. Además de aquello, expertos sugieren que el conocimiento y la experiencia de las condiciones óptimas de crianza y pruebas con especies locales al área de interés es incluso más valioso que una rigurosa estandarización internacional, por lo que la incorporación de especies nativas en ensayos de toxicidad es promovida por sobre la completa estandarización de ensayos con especies cosmopolitas.

Hacia la incorporación de ecotoxicología de campo

La respuesta ecotoxicológica poblacional y comunitaria al stress es más importante que la respuesta individual. Sin embargo, estudios crónico sobre sistemas multi-específicos bajo condiciones no están aún disponibles, por lo que procedimientos paso a paso comenzando con test mono-específicos en condiciones de laboratorio, que permitan definir relaciones concentración/efecto dentro de límites temporales. En este escalamiento gradual, tres pasos son identificados: nivel básico, nivel

confirmatorio y nivel definitivo. En el nivel básico se incluyen los ensayos de inhibición de crecimiento de microalgas, Ensayos de inmovilización aguda de *Daphnia* y ensayos de reproducción de 14 días de *Daphnia* y ensayos de toxicidad aguda en Peces. En el nivel confirmatorio, test deberían ser utilizados para producir información más completa y son de naturaleza más compleja, relacionados a compartimientos ambientales específicos o adicionales. También podrían aquí ser considerados exposición crónica y rutas específicas de contaminación, dependiendo de las propiedades químicas y del grado de contaminación esperado. Pruebas a un nivel definitivo podrían ser necesarias en casos especiales, como por ejemplo si están involucradas concentraciones significativas de un químico en el ambiente o si hay evidencia de posible riesgo ambiental. En este caso, los sistemas experimentales deberían ser analizados mediante una aproximación más cercana a las condiciones naturales, especialmente con respecto a las interacciones interespecíficas y al funcionamiento del sistema multi-específico.

Estudios realizados en el ámbito de la ecotoxicología varían desde la evaluación de ambientes naturales posterior a la contaminación, evaluación de ambientes naturales tras una experimentación con contaminación, experimentos de campo utilizando encierros, y estudios de mesocosmos (pozas o tanques en terreno, tubos en laboratorio, ríos artificiales, etc) (ver Relyea & Hoverman 2006, y referencias). Los sistemas analizados incluyen diversos niveles tróficos, mayoritariamente productores+herbívoros o herbívoros +carnívoros.

Ensayos de Biodegradación

La medición de la biodegradación inmediata es un endpoint relevante para sustancias químicas orgánicas, ya que podría orientar acerca del potencial de persistencia del tóxico. Aunque los datos proporcionados por tests de biodegradación inmediata no son usados directamente para la evaluación de la toxicidad de químicos en sistemas acuáticos, es relevante estimar el potencial para organismos acuáticos expuestos por largos períodos (es decir, si el químico no es inmediatamente biodegradado). Estos dos aspectos cuentan en la evaluación global de riesgo para sistemas acuáticos.

Una serie de métodos para determinar la biodegradación de un químico están disponible en la Guía de la OECD 301, estos son (1) DOC Die-Away, (2) Evolución de CO₂, (3) MITI (I), (4) Botella cerrada modificada, (5) OECD Screening, (6)Respirometría manométrica. Aquellos tests para químicos insolubles o volátiles, deberían ser realizados solo bajo medidas de precaución. Generalmente, el nivel requerido para que un químico sea considerado rápidamente biodegradable es 70% de remoción del carbono orgánico disuelto o el 60% de la demanda teórica de oxígeno o producción de dióxido de carbono. Este nivel debería normalmente ser alcanzado dentro de una ventana de 10 días (el período de 10 días después de que el 10% de la biodegradación ha ocurrido).

Descripción de los principios generales de los ensayos

Una solución, o suspensión, de la sustancia de prueba en un medio mineral es inoculado e incubado bajo condiciones aeróbicas y en oscuridad. El inóculo puede ser de diversa naturaleza, como son lodos activados; efluentes de aguas residuales (no clorados); aguas superficiales y sedimentos o bien

una mezcla de estos. La cantidad de carbono orgánico disuelto DOC debido al inoculo en la solución de prueba debe mantenerse tan baja como sea posible, respecto de la cantidad de carbono orgánico debido a la sustancia de prueba. La tolerancia se mide para evaluar la actividad endógena del inoculo con blancos paralelos inoculados, pero sin la sustancia de prueba. Un compuesto de referencia se analiza paralelamente para chequear el procedimiento.

En general, la degradación es seguida por la determinación en intervalos frecuentes de parámetros tales como DOC, producción de CO₂ y captación de O₂, que permiten identificar el inicio y el término de la biodegradación. Normalmente, el test termina tras 28 días. Podría finalizar antes, si es que la curva de biodegradación ha alcanzado un *plateau* por al menos tres determinaciones, o bien, después si el estado estacionario aún no se ha logrado tras 28 días, en cuyo caso el químico no sería clasificado como rápidamente biodegradable.

El porcentaje de degradación D_t , se calcula como el valor promedio de las mediciones duplicadas del parámetro, mediante la siguiente fórmula:

$$D_t = \frac{S_b - S_a}{S_b} \times 100$$

donde,

D_t = % de degradación primaria en el tiempo t, normalmente 28 días;

S_a = cantidad residual del químico de prueba en el medio inoculado, al final del test (mg);

S_b = cantidad residual del químico de prueba en el control abiótico, al final del test (mg).

Ensayos de Bioacumulación

La bioacumulación no es un endpoint establecido, sin embargo es importante para la predicción del potencial para efectos crónicos. Por lo tanto, datos de bioacumulación deberían ser reportados cuando estén disponibles, y cuando no los hay, es posible realizar una predicción basada en propiedades físico-químicas.

La bioacumulación ocurre a través de múltiples vías de exposición, incluyendo ingesta de alimento y sedimento, pero para la mayoría de las sustancias orgánicas suficientemente solubles, se sugiere que el ingreso desde el agua (bioconcentración) es la ruta de exposición predominante. A través del uso de QSAR o experimentación pueden generarse datos de bioconcentración (factor de bioconcentración, BCF). El cálculo del factor de bioconcentración debe ser realizado e interpretado con precaución, dado que existen otras variables que pueden afectar su magnitud, como son el crecimiento de los individuos durante el estudio, el contenido de lípidos debería ser relativamente constante y podría ser influenciada por la tasa de alimentación, peso y edad de los animales experimentales, etc. La estimación de bioconcentración obtenida mediante QSAR a menudo no permite predecir el BCF de químicos extremadamente hidrofóbicos bajo condiciones de campo, por lo que, si se dispone de más de una estimación de BCF para la misma especie, se debe considerar la media geométrica de las distintas estimaciones.

En literatura, se encuentran mayormente disponibles valores de BCF para especies de peces, pero también es posible encontrar resultados para especies de mitílidos (choritos), ostras, ostiones.

Ensayo de Bioacumulación en peces: Exposición acuosa y a través de la dieta-Guía OECD 305

Descripción del método: El test consta de dos fases: la exposición (captación) y post-exposición (depuración). Durante la fase de captación, un grupo de peces de una especie es expuesto a la sustancia de prueba en una o más concentraciones seleccionadas. Luego son transferidos a medio libre de la sustancia de prueba para la fase depurativa, la que puede obviarse en caso que la captación haya sido insignificante durante la primera fase ($BCF < 10$). Durante ambas fases, la concentración de la sustancia de prueba es cuantificada en/sobre el pez (o en el tejido que sea especificado). En adición al grupo experimental de peces, es mantenido un grupo control, en idénticas condiciones excepto por la ausencia de la sustancia de prueba.

La fase de captación dura usualmente 28 días, pero puede extenderse o acortarse dependiendo de si se ha alcanzado el estado estacionario. Cuando es posible, el factor de bioconcentración es calculado preferiblemente como la razón de concentración en el pez (C_f) y en el agua (C_w) en aparente estado estacionario y como un factor de bioconcentración cinético, el que es estimado como la razón de la tasa constante de captación (k_1) y depuración (k_2) asumiendo una cinética de primer orden. De esta forma, se tiene que:

$$BCF = \frac{C_f}{C_w} = \frac{k_1}{k_2}$$

BIBLIOGRAFÍA

APHA, AWWA and WEF (2012). Standard Methods for the examination of water and wastewaters, 22th edition, American Public Health Association, Washigton D.C.

Bridges TS and Dillon TM (1993). "The use of population modeling to interpret chronic sublethal sediment bioassays" Environmental Effects of Dredging Technical Note EEDP-04-19, U.S. Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, MS.

Burton GA, Baudo R, Beltrami M and Rowland C (2001). Assessing sediment contamination using six toxicity assays. J. Limnol., 60(2): 263-267.

Caswell H (1996). Demography meets ecotoxicology: untangling the population level effects of toxic substances. In: Ecotoxicology: A Hierarchical Treatment. (eds Newman M.C. & Jagoe C.H.) Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, pp. 255–292.Chapman.

European Chemicals Agency (ECHA)2015. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment Chapter R.7a: Endpoint specific guidance.

Fleeger JW, Carman KR, Nisbet RN (2003). Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. The Science of the Total Environment 317: 207–233.

Gama-Flores JL, Sarma SSS and Araiza MAF (1999). Combined effect of *Chlorella* density and methyl parathion concentration on the population growth of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 62: 755-769.

Gama-Flores JL, Sarma SSS and Nandini S (2004). Acute and chronic toxicity of the pesticide methyl parathion to the rotifer *Brachionus angularis* (Rotifera) at different algal (*Chlorella vulgaris*) food densities. Aquatic Ecology 38: 27-36.

Gama-Flores JL, Ferrara-Guerrero M de J, Sarma SSS and Nandini S. (2007). Prey (*Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis*) exposed to heavy metals (Cu and Cd) for different durations and concentrations affect predator's (*Asplanchna brightwellii*) population growth. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. 42: 1483-1488.

International Conference On Harmonisation (ICH) of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. 2011. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Guidance On Genotoxicity Testing And Data Interpretation For Pharmaceuticals Intended For Human Use S2(R1).

Lahr J, Maas-Diepeveen JL, Stuijzand SC et al. (2003). Responses in sediment bioassays used in the Netherlands: can observed toxicity be explained by routinely monitored priority pollutants? Water Research 37: 1691–1710.

Luna-Andrade A, Aguilar-Duran R, Nandini S & Sarma SSS (2002). Combined effects of copper and microalgal (*Tetraselmis suecica*) concentrations on then population growth of *Brachionus plicatilis* Müller (Rotifera). Water, Air and Soil Pollution 141: 143-153.

Maltby L and Naylor C (1990). Preliminary Observations on the Ecological Relevance of the Gammarus 'Scope for Growth' Assay: Effect of Zinc on Reproduction. Functional Ecology 4: 393-397.

Mangas-Ramírez E, Sarma SSS & Nandini S (2002). Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) density and ammonia concentration on the population dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 51: 216-222.

Martínez-Jerónimo F and García-González R (1994). Effect of food concentration on the chronic toxicity of sodium dodecyl sulphate to *Daphnia magna*. *Journal of aquatic ecosystem health*, Vol. 3, No. 4, 12: 247-253.

NCH 2083.Of1999: Aguas – Bioensayo de Toxicidad Aguda mediante la Determinación de la Inhibición de la movilidad de *Daphnia magna* o *Daphnia pulex* (Crustacea, Cladocera).

Newman MC (1995). “Advances in Trace Substances Research. Quantitative Methods in Aquatic Ecotoxicology”. Edit Board, University of Georgia, USA.

OECD (1983) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 415). One-Generation Reproduction Toxicity Study. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (1992) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 406) Adopted by the Council on 17th July 1992 Skin Sensitisation. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (1996) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 411). Subchronic Dermal Toxicity: 90-day Study. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (1997) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 471). Bacterial Reverse Mutation Test. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (1998) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 408). Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (1998). GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 410). Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2000). Guidance Document on Acute Oral Toxicity. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No.24.

OECD (2000). GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO421). Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2000). GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 422). Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2001). FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 414). Prenatal Developmental Toxicity Study. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2001). FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 416). Two-Generation Reproduction Toxicity Study. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OCDE (2001) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO420) Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OCDE (2001) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 423) Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

OCDE (2001) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 425) Acute Oral Toxicity – Up-and-Down Procedure. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OCDE (2002) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO433) Acute Inhalation Toxicity - Fixed Concentration Procedure. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2004) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO202) Daphnia sp. Acute Immobilisation Test. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2004) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO434) Proposal for a New DRAFT GUIDELINE: Acute Dermal Toxicity – Fixed Dose Procedure. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2008) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO 407).Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2009) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO403) Acute Inhalation Toxicity. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2009). FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO412). Subacute Inhalation Toxicity: 28-Days. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2010) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO426) Skin Sensitization: Local Lymph Node Assay. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2009) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO 436) Acute Inhalation Toxicity - Acute Toxic Class Method. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2009) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO 451). Carcinogenicity Studies. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2011) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO201). Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2012) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO305) Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2012) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO405) Acute Eye Irritation/Corrosion. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2013) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO 236) Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2014). Guidance document on Integrated Approached to Testing and Assessment for Skin Irritation/Corrosion. Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, (NO. 203.), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2014) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO473). In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2014) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO487). In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2015) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO430) In Vitro Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test Method (TER). Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2015) GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO431) In Vitro Skin Corrosion: reconstructed human epidermis (RHE) test method 431. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2015) GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS (NO 404) Acute Dermal Irritation/Corrosion. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2015) GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO 435) In Vitro Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

OECD (2015) GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS (NO439) In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

Rao TR and Sarma SSS (1986). Demographic parameters of *Brachionus patulus* Muller (Rotifera) exposed to sublethal DDT concentrations at low and high food levels. *Hydrobiologia* 139: 193-200.

Rao TR and Sarma SSS (1990). Interaction of *Chlorella* density and DDT concentration on the population dynamics of the rotifer, *Brachionus patulus* (Rotifera). *Indian J. Environ. Health* 32: 157-160.

Relyea R. and Hoverman J (2006). Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. *Ecology Letters*, 9: 1157–1171.

Repetto M., Repetto G. *Toxicología Fundamental* (2009). Ediciones Díaz de Santos 4ta edición. Páginas 419-432.

Sarma SSS and Nandini S (2006). Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 41: 1417-1430.

Sarma SSS, Nandini S and Araiza MAF (1998). Effect of methyl parathion-treated prey (*Brachionus calyciflorus*) on the population growth of the predator *Asplanchna sieboldi* (Rotifera). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 61(1): 135--142.

Sarma SSS, Nandini S and Gama-Flores JL (2001a). Effect of Methyl Parathion on the Population Growth of the Rotifer *Brachionus patulus* (O. F. Müller) under Different Algal Food (*Chlorella vulgaris*) Densities. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 48, 190-195.

Sarma SSS, Nandini S, Gama-Flores JL and Fernandez-Araiza MA (2001b). Population growth of *Euchlanis dilatata* (Rotifera): combined effects of methyl parathion and food (*Chlorella vulgaris*).

Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes. 36(1): 43-54.

Sarma SSS, Ramírez-Pérez T, Nandini S and Peñalosa-Castro I (2001c). Combined effects of food concentration and the herbicide 2,4-D on the population dynamics of *Brachionus patulus* (Rotifera). *Ecotoxicology* 10(2): 91-99.

Snell TW and Joaquim-Justo C (2007). Workshop on rotifers in ecotoxicology. *Hydrobiologia* 593: 227–232.

Truhaut, R (1977). "Eco-Toxicology: Objectives, Principles and Perspectives", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 1, no. 2, pp. 151-173.

U.S. Environmental Protection Agency (1991). Technical Support Document For Water Quality-based Toxics Control. EPA/505/2-90-001 PB91-127415.

U.S. Environmental Protection Agency (1996). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.3250 Subchronic Dermal Toxicity—90 days.

U.S. Environmental Protection Agency (1998). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.1200 Acute Dermal Toxicity. Report EPA 712-C-02-192.

U.S. Environmental Protection Agency (1998). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.1300 Acute Inhalation Toxicity.

U.S. Environmental Protection Agency (1998). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.2400 Acute Eye Irritation.

U.S. Environmental Protection Agency (1998). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.2500 Acute Dermal Irritation.

U.S. Environmental Protection Agency (1998). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.3100 90–Day Oral Toxicity in Rodents.

U.S. Environmental Protection Agency (1998). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.3200 21/28-Day Dermal Toxicity .

U.S. Environmental Protection Agency (1998). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.3465 90–Day Inhalation Toxicity.

U.S. Environmental Protection Agency (1998). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.3700 Prenatal Developmental Toxicity Study.

U.S. Environmental Protection Agency (1998). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.3800 Reproduction and Fertility Effects.

U.S. Environmental Protection Agency (2000). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.3050 Repeated Dose 28–Day Oral Toxicity Study in Rodents.

U.S. Environmental Protection Agency (2000). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.3550 Reproduction/ Developmental Toxicity Screening Test.

U.S. Environmental Protection Agency (2000). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.3650 Combined Repeated Dose Toxicity Study With the Reproduction/ Developmental Toxicity Screening Test.

U.S. Environmental Protection Agency. (2002). Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. Fifth Edition.

U.S. Environmental Protection Agency (2002). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.1000 Acute Toxicity Testing— Background. Report EPA 712–C–02–189.

U.S. Environmental Protection Agency (2002). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.1100 Acute Oral Toxicity. Report EPA 712–C–02–190.

U.S. Environmental Protection Agency. (2003). Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.2600 Skin Sensitization.