

# Cursos de Verano 2008

18 01/UAH

Alcalá de Henares



Programa, registro, evaluación, autorización y restricción de las sustancias y de los preparados químicos. REACH

Directores: Eduardo de la Peña de Torres  
M<sup>a</sup> José González Muñoz  
Ana de la Torre Reoyo

## INTRODUCCIÓN

Curso de Verano “Registro, evaluación, autorización y restricción de las sustancias y de los preparados químicos. REACH”, Facultad de Farmacia de la Universidad de Alcalá los días 1 y 4 de julio de 2008.

El curso fue inaugurado por el Dr. Félix Ortega Ortiz de Apodaca, Decano de la Facultad de Farmacia, Dra. Guillermina Font Pérez, Presidente de la AETOX y Dra, Covadonga Caballo Dieguez del Ministerio de Sanidad y Consumo, y los directores del Curso Dres. Eduardo de la Peña de Torres del CSIC, M<sup>a</sup> José González Muñoz de la UAH, Ana de la Torre Reoyo del INIA.

Las presentaciones e cada uno de los ponentes siguieron el programa propuesto y se recogen en el presente documento siguiendo el orden cronológico efectuado

1. Introducción al REACH  
. *Dra. Covadonga CABALLO DIEGUEZ*
2. Introducción a la Toxicología de los Productos Químicos  
. *Dra. Guillermina FONT PEREZ*
3. Valoración de los Peligros para la Salud Humana  
. *Dra. M<sup>a</sup> José GONZÁLEZ MUÑOZ*
4. Valoración de la Mutagenicidad  
. *Master Óscar HERRERO FELIPE*
5. Ensayos *in vitro*  
. *Dra. M<sup>a</sup> José HAZEN SAN JUAN*
6. Valoración de la Carcinogenicidad  
. *Dr. Eduardo de la PEÑA de TORRES*
7. Valoración de la Toxicidad para la Reproducción  
. *Dr. Nicolás OLEA SERRANO*
8. Taller sobre Búsqueda de datos.  
. *Dr. Guillermo REPETTO KUHN*
9. Compuestos orgánicos volátiles en el medio ambiente  
. *Dr. José M<sup>a</sup> Sánchez Montero*
10. Evaluación de la Seguridad Química para la Salud Humana.  
. *Dra. Esther MARTÍN de DIOS*
11. Aspectos generales de la puesta en marcha del REACH  
. *Dr. Fernando ESCORZA MUÑOZ*
12. Seguimiento de la aplicación del REACH  
. *Dra. Maria TARANCÓN ESTRADA*
13. Impacto del REACH en la Industria Química  
. *Dr. Xavier BARAZA SÁNCHEZ*
14. Evaluación de la Seguridad Química para el Medio Ambiente. 1  
. *Dra. Matilde CARBALLO SANTAOLAYA*
15. Evaluación de la Seguridad Química para el Medio Ambiente.2  
. *Dra. Ana de la TORRE REOYO*

Se adjuntan una serie de fotografías realizadas a lo largo del Curso

# INTRODUCCIÓN AL REACH



Covadonga Caballo Diéguez

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD AMBIENTAL Y SALUD LABORAL

# ¿QUÉ ES REACH?

REACH es el Reglamento para el Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Químicos. Fue adoptado el 18 de diciembre de 2006 y entró en vigor el 1 de junio de 2007 para simplificar y mejorar el marco legislativo de los productos químicos de la UE

# ¿A qué sustancias químicas se aplica REACH?

REACH se aplica no solo a las sustancias químicas usadas en procesos industriales sino también a las de uso cotidiano, como son productos de limpieza, pinturas, artículos como muebles, ropas, etc.

Hasta la entrada en vigor del  
Reglamento REACH

Los Instrumentos Legales para  
el control de los productos  
químicos ha estado basada en  
tres Directivas (RR.DD.) y un  
Reglamento

- Clasificación y etiquetado

*Sustancias peligrosas*

Directiva 67/548/CEE - Real Decreto 363/1995

*Preparados peligrosos*

Directiva 1999/45/CE - Real Decreto 255/2003

- Evaluación del riesgo

Reglamento CE 793/93. Sustancias existentes

- Limitación de puesta en el mercado

Directiva 76/769/CEE - Real Decreto 1406/1989

# DIRECTIVA 67/548/CEE

## ➔ Clasificación y etiquetado SQ

⑩ Categorías de peligro

⑩ Naturaleza de los riesgos (frases R)

⑩ Consejos de Seguridad (frases S)

## ➔ Notificación de SQ Nuevas antes de su comercialización

## ➔ Evaluación del riesgo de SQ nuevas desde 1993





# EINECS

## Inventario Europeo de Sustancias Químicas Existentes

Banco de datos de más de 100.000 sustancias químicas puestas en el mercado Europeo antes del 18 de septiembre de 1981

### Incluye

- 82.000 sustancias bien caracterizadas
- 18.000 sustancias no caracterizadas

### Búsqueda de sustancias

- Bien caracterizadas: N° CAS, Nombre y Fórmula molecular
- No caracterizadas: Definición

### Soporte para el usuario

- Papel
- CD-Rom

# ELINCS

## Lista Europea de Sustancias Químicas Notificadas

Sustancias notificadas a partir del 18 de septiembre de 1.981

### SUSTANCIAS NO PELIGROSAS

- Nombre IUPAC y comercial
- Sólo nombre comercial (máximo 3 años)
- Nombre comercial por periodo indefinido por razones de secreto comercial

### SUSTANCIAS PELIGROSAS

- Nombre IUPAC y comercial
- Sólo nombre comercial (hasta su inclusión en el Anexo I)

# Funcionamiento de la Directiva 67/548/CEE

En general, las disposiciones de la Directiva han resultado ser satisfactorias.

No obstante:

Sistema de notificación de sustancias nuevas: Polímeros, productos intermedios, exenciones para la investigación y desarrollo (innovación y competitividad obstaculizados?)

Periodos demasiados largos para aceptar una clasificación armonizada

No existe seguimiento adecuado de CMRs

8 modificaciones y 30 adaptaciones al progreso técnico han dispersado las disposiciones de la Directiva en numerosos instrumentos legislativos

# DIRECTIVA 1999/45/CE

- ➔ Garantizar el mercado interior, regulando clasificación, envasado y etiquetado de los preparados peligrosos.
- ➔ Proteger la salud humana y el medioambiente, informando por medio de la etiqueta y Fichas de Datos de Seguridad.
- ➔ Clasificación por "método convencional"
- ➔ Incluye los plaguicidas y los biocidas en cuanto a la forma de clasificación.



# DIRECTIVA 1999/45/CE

Ha resuelto muchos de los problemas relacionados con los preparados peligrosos:

- Introduce criterios de Clasificación y Etiquetado de los peligros para medio ambiente
- Introduce normas para los preparados no clasificados pero que, sin embargo, pueden ser peligrosos

No obstante:

Uno de los problemas fundamentales sigue siendo el control del cumplimiento

# REGLAMENTO 793/93

## OBJETIVO

Determinar y reducir los riesgos relacionados con la producción y la distribución de las sustancias químicas existentes

- Reglamento (CE) nº 1488/94 (Principios de evaluación del riesgo)
- Guías Técnicas

# REGLAMENTO 793/CEE (cont.)

Sistema de prioridades para decidir evaluaciones.

4 listas prioritarias, 141 sustancias.

Cada sustancia se asigna a un Estado ponente. Instituto de Salud y Protección de los Consumidores. Centro Común de Investigación. ECB. Ispra (Italia)

Carga de la prueba sobre las autoridades.

Reducción del riesgo.

# REGLAMENTO 793/93

- Lento
- Requiere numerosos recursos
- Impide que el sistema funcione de forma eficaz y rentable
- La asignación de responsabilidades es inadecuada
- Exige información solo a productores e importadores
- Dificultad en realizar ensayos complementarios



# DIRECTIVA 76/769

- ✓ Limitación y Prohibición.
- ✓ Eliminar obstáculos al comercio intracomunitario.
- ✓ Proteger la Salud Pública de los consumidores.
- ✓ >900 sustancias reguladas. Amianto, PCB. Pentaclorofenol, etc.

# Funcionamiento de la Directiva 76/769/CEE

Ha conseguido preservar el mercado interior y proteger tanto la salud humana como el medio ambiente

Sin embargo:

Después de más de 25 años de funcionamiento, la Directiva se ha vuelto bastante compleja y no siempre es fácil su interpretación y aplicación

# Motivaciones para el desarrollo de una nueva política en productos químicos

- Exigencias en la protección de la salud derivadas del avance en los conocimientos científico-técnicos
- Han surgido nuevos problemas de salud, como los relacionados con los disruptores endocrinos
- Los actuales procedimientos en el ámbito de la UE en relación con la gestión del riesgo son lentos y tediosos e implican un gran esfuerzo

# RESPUESTA

## Revisión de los cuatro instrumentos jurídicos

Reglamento (CE) nº 1907/2006 de 18 de diciembre, del Parlamento Europeo y del Consejo relativo al Registro, la Evaluación, la Autorización y la Restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH)

# REACH

Reglamento (CE) 1907/2006, relativo al Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Sustancias Químicas

- ✓ Tiene en cuenta la casi totalidad de sustancias químicas
- ✓ Deberá cumplir los siguientes objetivos:
  - Protección de la salud humana y del medio ambiente
  - Armonización y centralización de procedimientos para facilitar el mercado interior
  - Transparencia en la información
  - Promover métodos alternativos para la evaluación de peligrosidad
  - Responsabilidad del sector industrial

# REACH: principales características

- Registro de sustancias a partir de 1 tonelada
- Evaluación del expediente y de las sustancias
- Autorización para sustancias de alta preocupación
- Restricciones - red de seguridad
- Agencia para manejar el sistema

# REACH - Registro

...obliga a fabricantes e importadores a obtener información sobre sus sustancias y a utilizar esos conocimientos para asegurar la buena gestión de los riesgos que las sustancias puedan presentar

# REACH - Registro

- ✓ Los fabricantes o importadores deberán presentar a la Agencia Europea, una solicitud de registro con un conjunto mínimo de datos o de información para cada sustancia.
- ✓ Esta información va dirigida a conocer si la sustancia es peligrosa y porqué, y si plantea un riesgo para la salud de alguna de las poblaciones en contacto con ella.
- ✓ Para conocer la naturaleza exacta y la extensión de estos riesgos, los fabricantes o importadores de ciertas sustancias (las fabricadas o importadas en cantidades mayores a 10 T/año) deberán realizar la llamada "Evaluación de la Seguridad Química".



# REACH - registro

- ✓ Evaluación de la Seguridad Química no va encaminada, únicamente, a conocer si una población expuesta a una sustancia química está en una situación de riesgo o no, sino además, a determinar las medidas de control del riesgo que se consideren necesarias para la protección de la salud de dicha población.
- ✓ Para poder determinar estas medidas, es necesario que se establezcan canales de información y comunicación entre todos los implicados.

# REACH - Registro

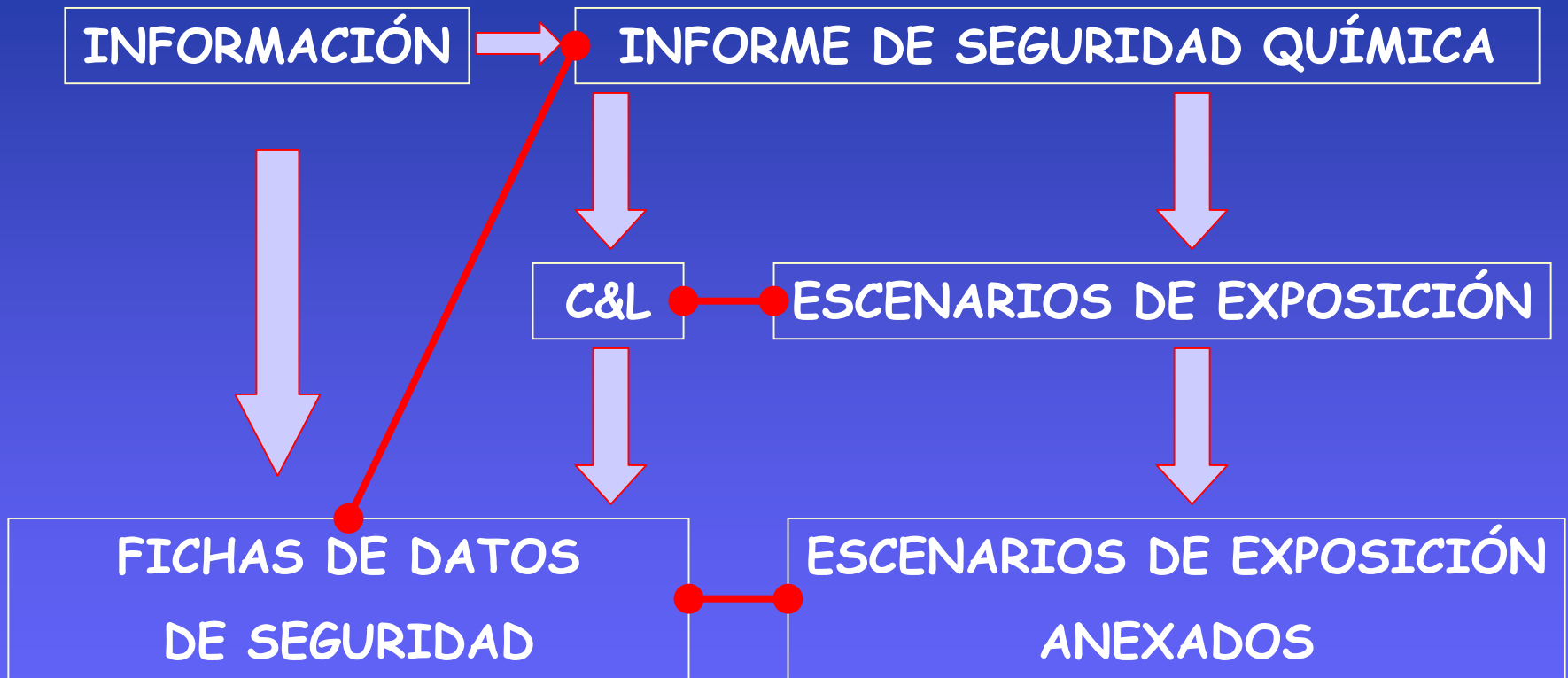
✓ Este es otro de los aspectos importantes del REACH y es que implica a toda la cadena de suministro por lo que los fabricantes e importadores, no solo tienen que demostrar que el uso es seguro en los procesos bajo su control, sino que, a su vez, deben dar instrucciones y recomendaciones a los usuarios para un manejo seguro de las sustancias que comercializan.

# REACH - Registro

Estas recomendaciones serán proporcionadas, a través de la Ficha de Datos de Seguridad, cuya calidad se verá mejorada con REACH.

✓ En el caso de sustancias fabricada o importadas en cantidades mayores a 10 T/año, la Ficha de Datos de Seguridad tendrá un Anexo adjunto denominado "Escenarios de Exposición" que proporcionará información sobre como utilizar la sustancia de una manera segura. Esta información será específica para cada uso identificado de la sustancia

# REGISTRO



# Diseño del Registro en REACH

- Información mínima necesaria
- Podría requerirse información adicional
- La Industria hará las propuestas de la información adicional
- La Industria desarrollará e implantará la decisión de gestión del riesgo basada en la evaluación de riesgo
- La Industria demostrará que no son necesarias medidas de gestión de riesgo adicional a las implantadas o recomendadas

# ....para ello

- Recopilar toda la información relevante existente (cubriendo peligrosidad, usos y exposición)
- Determinar la información necesaria de acuerdo con los Anexos VII-X
- Introducir la Información utilizando IUCLID 5
- Realizar el Informe de Seguridad Química
- Desarrollar la Ficha de Datos de Seguridad, basada en el Informe de Seguridad Química, incluyendo la evaluación de peligrosidad y las medidas de manejo de riesgo relevantes
- Comunicar la Ficha de Datos de Seguridad a los usuarios intermedios, con los escenarios de exposición anexados

# Generación de la Información

- (Q)SARs
- Análogos, leer a través
- Datos disponibles (no-EU, GLP, no GLP)
- Exenciones basadas en la exposición (Anexos IX y X)
- Datos históricos en humano
- Datos compartidos
- Ensayos (*in vitro*, *in vivo*) como último recurso

Anexo XI = FLEXIBILIDAD

# Evaluación de la información

- Evaluación de la calidad de los datos.
  - Adecuados para clasificación y Evaluación del riesgo
  - Fiabilidad.
  - Relevancia.
- La información cumple con requisitos de REACH:
  - Recoger y compartir la información existente.
  - Considerar los requisitos para cada intervalo de tonelaje.
  - Identificar las lagunas.
  - Generar nueva información o proponer una estrategia de ensayo.



# Evaluación Seguridad Química

## Objetivo:

Evaluar los riesgos derivados de la fabricación y/o uso de las sustancias y asegurarse que estos están adecuadamente controlados

# Evaluación Seguridad Química

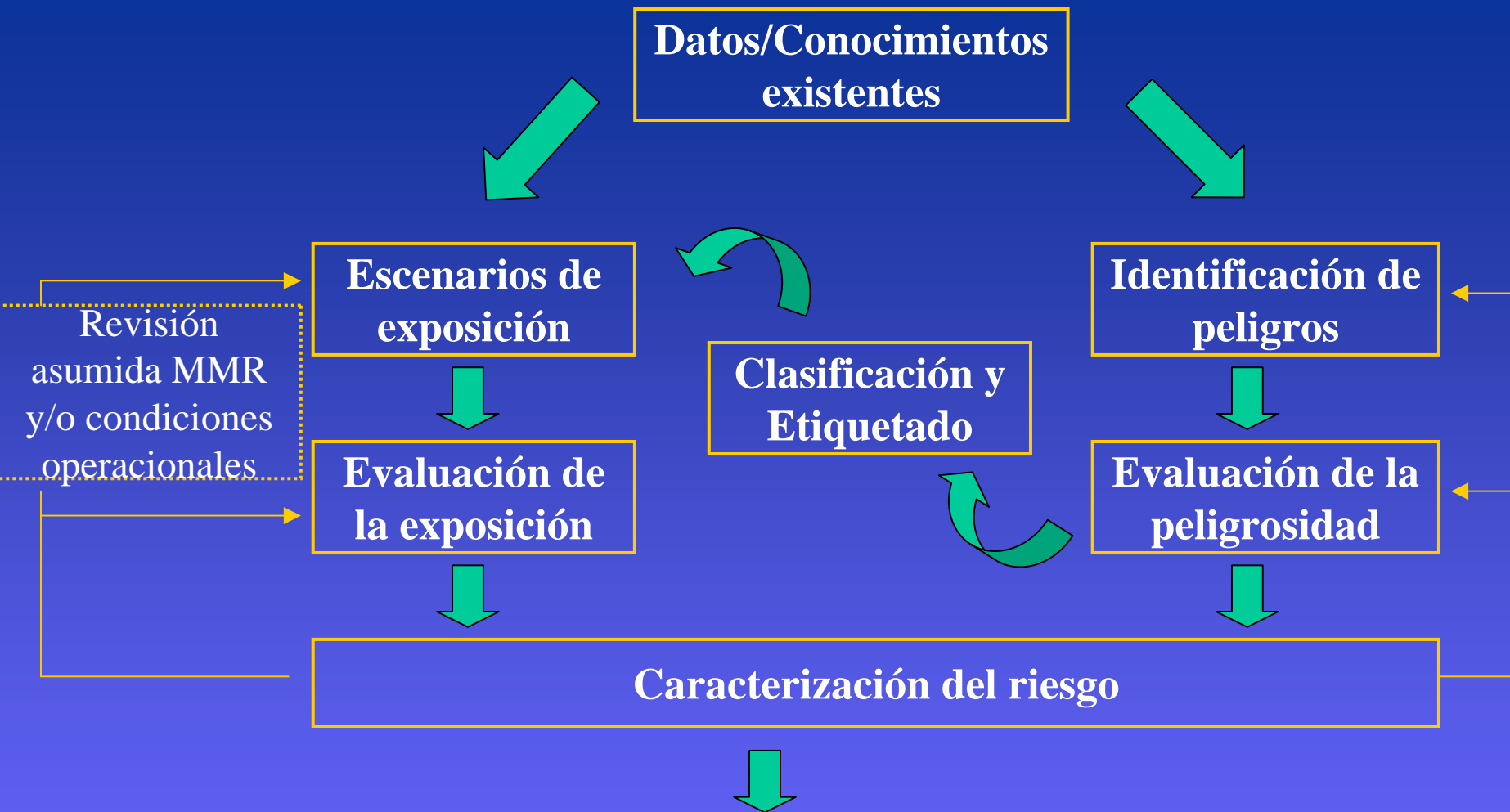
- Herramienta para determinar:
  - si los riesgos están controlados,
  - que medidas de control de riesgo son necesarias para la protección de la salud o del medio ambiente.
- La realiza:
  - el F/I para todo uso identificado
  - el usuario, si el uso no ha sido identificado

# Evaluación de Seguridad Química



6 pasos:

- Valoración de los peligros para la salud humana
- Valoración de los peligros para la salud humana de las propiedades fisicoquímicas
- Valoración de los peligros para medio ambiente
- Valoración PBT y vPvB  
.....si peligroso o PBT o vPvB.....
- Evaluación de la exposición incluyendo escenarios de exposición
- Caracterización del Riesgo



**Escenarios de exposición con medidas de manejo del riesgo (MMR) y condiciones operacionales para controlar el riesgo adecuadamente:**

- Documentado en el Informe de Seguridad Química (ISQ)
- Comunicado a los usuarios (vía un anexo de FDS)

# Plazos para el Registro

- Sustancias "nuevas" : Agosto 2008
- Sustancias "existentes":
  - 1000 t /año por F/I: hasta 30 de noviembre de 2010
  - CMR cat. 1 y 2: hasta 30 de noviembre de 2010
  - 100 t/año por F/I: hasta 31 de mayo de 2013
  - 1t/año por F/I: hasta 31 de mayo de 2018
  - Sustancias en artículos: iguales plazos

# Prerregistro para sustancias en fase transitoria (existentes) (1 de junio 2008- 1 de diciembre de 2008)

Todo solicitante de registro de una sustancia a partir de 1 tn, presentará a la Agencia la siguiente información:

- Nombre sustancia (EINECS y CAS)
- Nombre y dirección de contacto
- Plazo de registro previsto

A más tarda 1 enero 2009 la Agencia publicará la lista de sustancias y el plazo previsto para su registro

Tras la publicación, el usuario intermedio de una sustancia que no figure en la lista podrá notificar a la Agencia su interés por dicha sustancia, sus datos y los datos de su proveedor. La Agencia publicara el nombre de la sustancia y poporcionara a un posible solicitante de registro las señas del usuario intermedio

# Foros de intercambio de información entre sustancias (FIIS)

Todos los posibles solicitantes de registro, usuarios intermedio y terceras partes que hayan presentado un prerregistro, o cuya información este ya en posesión de la Agencia (biocidas, fitosanitarios), relativa a una misma sustancia en fase transitoria, o los solicitantes de registro hayan presentado una solicitud de registro para dicha sustancia antes del plazo fijado, serán miembros de un foro de intercambio de información sobre sustancias (FIIS). El objetivo es:

- Facilitar el intercambio de información entre solicitantes
- Aprobar la clasificación y etiquetado cuando existan diferencias en la Cl&L de una sustancia entre posibles solicitantes de registro
- Los miembros del FIIS facilitarán estudios, detectarán de forma colectiva las necesidades de hacer estudios

# REACH - Evaluación

✓ El proceso de Evaluación, proporciona un medio a las autoridades para poder requerir más información cuando se estime necesario, con objeto de asegurarse de que los efectos especialmente preocupantes para la salud hayan sido correctamente identificados, a la vez que facilita la comprobación del cumplimiento por la industria de sus obligaciones.



# Evaluación Dossier: Propuestas de ensayos

- La Agencia examinará la propuesta:
  - el ensayo propuesto es apropiado
  - alta calidad de los ensayos
  - no se está duplicando el ensayo
- La Agencia llevando a cabo la evaluación preparará un borrador con una de las siguientes decisiones:
  - requerir los ensayos propuestos
  - llevar a cabo los ensayos propuestos con modificaciones
  - rechazar los ensayos propuestos
  - Conforme si varios solicitantes de la misma sustancia han presentado propuesta del mismo ensayo

# Evaluación Dossier: Propuestas de ensayos

- La propuesta de Decisión seguirá un proceso de adopción
- La Agencia informará al registrante una vez que el Comité de los Estados miembros haya acordado la Decisión
- El registrante emitirá la información requerida a la Agencia mediante un update del dossier de registro (y un update del Informe de Seguridad Química si fuera necesario)

# Evaluación de la Sustancia

- Los Estados miembros usando los criterios prioritarios establecidos por la Agencia seleccionan las sustancias para evaluar
- Razones para sospechar que hay un riesgo para la salud o el medio ambiente:
  - estructuras similares de las sustancias con:
    - sustancias preocupantes conocidas
    - propiedades peligrosas: persistentes, bioacumulables
  - Información sobre exposición
  - aumento de toneladas producido por los registros emitidos por varios registrantes

## Evaluación de la Sustancia

- Si de la Evaluación se concluye que no es necesaria más información, la evaluación se para. El resultado se envía al Comité de los Estados miembros para evitar duplicación de trabajo
- Si de la Evaluación se concluye que es necesaria más información para clarificar una sospecha, la AC preparará un borrador de decisión con la debida justificación

# REACH - Autorización

- ✓ Con el proceso de Autorización se pretende que los riesgos derivados de sustancias altamente preocupantes estén controlados y que, en último término sean sustituidas por otras sustancias o tecnologías alternativas, siempre y cuando sean técnica y económicamente viables.
- ✓ El proceso de autorización promueve por si mismo la sustitución de sustancias CMR o de peligrosidad equivalente por sustancias menos peligrosas que no requieran autorización.
- ✓ El hecho de que cada solicitud de autorización deba incluir un análisis de alternativas promueve desarrollo de sustitutos más seguros

# AUTORIZACIÓN

Sustancias sometidas a Autorización:

- a) CMRs, cat. 1 y 2
- b) PBTs
- c) vPvB
- d) Sustancias preocupantes causando efectos irreversibles en las personas o medio ambiente, similares a las a-c, decisión caso por caso

# AUTORIZACIÓN

- Se aplicará a la fabricación, importación y usuarios intermedios
- No hay umbral de volumen, registro no requerido

La Comisión dará una Autorización si los riesgos son adecuadamente controlados tal como se documenta en el Informe de Seguridad Química

Si no, se tendrían en cuenta el análisis socio-económico y el análisis de alternativas

Las sustancias autorizadas se incluirán en el Anexo XIV

# REACH - Restricción

- ✓ Como un sistema de seguridad para aquellas sustancias que se considere que plantean un riesgo inaceptable, se establece un sistema de restricciones similar al actual de limitación a la comercialización y al uso de determinadas sustancias y preparados peligrosos.
- ✓ A través de este mecanismo de restricción, no se podrán usar las sustancias incluidas en el Anexo XVII del REACH, en donde se especificaran aquellos usos restringidos. En este Anexo están incluidas las actuales limitaciones a la comercialización y uso establecidas a través de la Directiva 76/769/CEE.



# RESTRICCIÓN

## -una red de seguridad

Puede ser aplicada a

- fabricación, uso, comercialización
- sustancia propia o en un preparado o en un artículo

Cuando

- exista un riesgo inaceptable para la salud humana o el medio ambiente
- el riesgo necesite ser controlado en toda la Comunidad

# REACH - Cumplimiento- FORO

- ✓ Es función de los Estados miembros el control del adecuado cumplimiento del nuevo Reglamento, para lo que se ha de establecer un sistema de controles oficiales e inspecciones y desarrollar disposiciones sobre sanciones por infracción efectivas, proporcionadas y disuasorias.
- ✓ Estas disposiciones han de notificarse a la Comisión antes del 1 de diciembre de 2008.

# REACH - EL FORO

✓ Para coordinar y armonizar la aplicación del nuevo Reglamento y el intercambio de información entre los Estados miembros, se ha establecido en la Agencia Europea un “Foro para el Intercambio de información”.

- Identificar estrategias de cumplimiento de la normativa y las mejores prácticas
- Coordinar el intercambio de inspectores e inspecciones conjuntas
- Desarrollar métodos e instrumentos de trabajo útiles para los inspectores locales
- Desarrollar un procedimiento electrónico de intercambio de información

# AGENCIA

**Instalada en Helsinki, esta operativa desde el 1 de junio de 2008. GESTIONARÁ todos los aspectos técnicos y administrativos del SISTEMA REACH**

## **COMPOSICIÓN**

**Consejo de Administración**

**Director ejecutivo**

**Comité de Evaluación del Riesgo**

**Comité de Análisis Socio Económico**

**Comité de los Estados Miembros**

**Foro de intercambio de actividades**

**Secretariado de apoyo técnico y administrativo**

# OBLIGACIONES

## FABRICANTES - IMPORTADORES - USUARIOS

- DUTY OF CARE (RESPONSIBLE OF CARE)  
Evaluación segura de la sustancia
- Tener disponible INFORMACIÓN de la sustancia
- Información de los riesgos CADENA DE SUMINISTRO
- Informar de todos CAMBIOS de su status, composición, usos y cantidades de la sustancia

# OBLIGACIONES

## AGENCIA - ESTADOS MIEMBROS

- AGENCIA: Apoyo técnico y administrativo
  - Gestionar y mantener bases de datos
  - Rechazar o aceptar el registro: Evaluación dossier
- ESTADOS MIEMBROS:
  - ↳ Apoyo a la industria a cumplir con sus obligaciones: Helpdesk
  - ↳ Evaluación de sustancias
  - ↳ Autorización y Restricción
  - ↳ Cumplimiento REACH

# Información:

<http://echa.europa.eu>

<http://ecb.jrc.it/reach/rip/>

**Muchas Gracias  
por vuestra atención**





VNIVERSITAT  
ID VALÈNCIA

VNIVERSITAT (ID VALÈNCIA) Facultat de Farmàcia

**Guillermina Font (guillermina.font@uv.es)**

**Catedrática de Toxicología**

**Presidenta de la Asociación Española de Toxicología**

**Departamento de Medicina Preventiva y  
Salud Pública, Ciencias de la Alimentación,  
Toxicología y Medicina Legal**

# REGISTRO; EVALUACIÓN, AUTORIZACIÓN Y RESTRICCIÓN DE LAS SUSTANCIAS Y DE LOS PREPARADOS QUÍMICOS. REACH

Introducción a la Toxicología de los Productos Químicos

Curso de verano de la  
UNIVERSIDAD DE ALCALA



- **Conceptos Toxicológicos**
- **Algunos aspectos básicos de Toxicocinética en Ecotoxicología y Toxicología Laboral**
- **Generalidades de la evaluación de la toxicidad aguda**

La Toxicología ha sido recientemente definida por la Sociedad de Toxicología como “el estudio de los efectos adversos de los agentes químicos, físicos y biológicos sobre los seres vivos y los ecosistemas, incluyendo la prevención y mejora de estos efectos”.

*Mateo J. B. Orfilia (Mahon, 1787-1853)  
creador de la Toxicología Científica*



La Toxicología es la ciencia que estudia los riesgos tóxicos con objeto de prevenirlos mediante la utilización de metodologías que permitan poner de manifiesto los efectos.

# CONCEPTOS TOXICOLÓGICOS

## TÓXICO

“Cualquier agente capaz de producir un efecto adverso para la salud”.

## XENOBIÓTICO

“Cualquier sustancia que interactúa con un organismo y que no es uno de sus componentes naturales”.

## TOXINA

“Sustancias tóxicas producidas por un organismo vivo, ya sea animal, vegetal o microorganismo”.

## CONTAMINANTE

“Cualquier forma de materia o energía”

# CONCEPTOS TOXICOLÓGICOS

## EXPOSICION

**Situación en la que una sustancia puede incidir, por cualquier vía, sobre una población, organismo, órgano, tejido o célula diana.**

**Se expresa en términos cuantitativos de concentración, duración y frecuencia (agentes químicos) o de intensidad (agentes físicos).**

# CONCEPTOS TOXICOLÓGICOS

## PELIGRO

“**Posibilidad** de que un agente produzca efectos adversos”.

## RIESGO

“**Probabilidad** de que se produzcan efectos adversos o daños, por exposición a un agente tóxico”



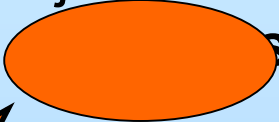

# CONCEPTOS TOXICOLÓGICOS

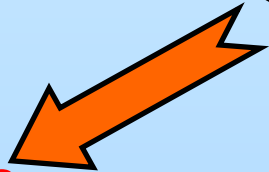
## SEGURIDAD

“Elevada probabilidad de que la exposición a una sustancia en condiciones definidas no producirá daño”.

**La probabilidad de absorción o contacto de una tóxico y la frecuencia determinan la TOXICIDAD**

**Seguridad, peligro, riesgo y toxicidad son propiedades relativas que dependen de diversos factores y por tanto presentan variabilidad interindividual e intraindividual.**

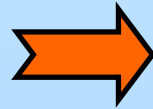
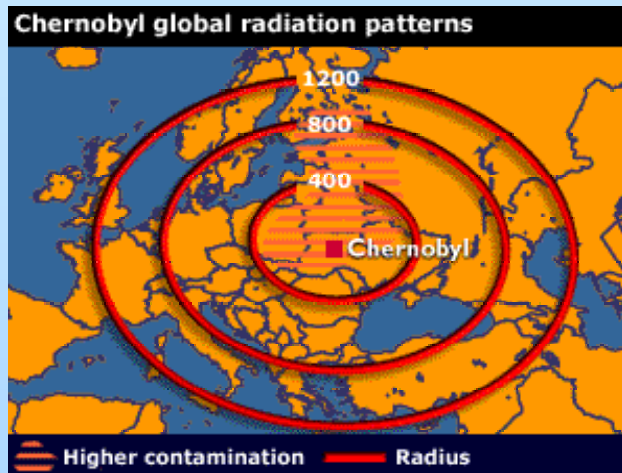
La Toxicidad como capacidad de producir un efecto tóxico, riesgo para humanos y/o animales y seguridad bajo las condiciones de uso de las sustancias dependen de factores  s y  s.

- 
- Naturaleza de las sustancias
  - Dosis
  - Frecuencia de exposición
  - Fuentes de exposición
  - Otros compuestos y factores ambientales.

- 
- Variabilidad entre individuos
  - Interacciones

# INTOXICACIÓN

Proceso patológico, con signos y síntomas clínicos, causados por una sustancia de origen exógeno o endógeno



Es consecuencia de la exposición al agente tóxico, y la posible absorción, distribución, biotransformación y excreción o retención.

# INTOXICACIONES



**Según grado de afectación**

**Según la evolución y en función del tiempo**

**Según el lugar de acción y la vía**

**Según la duración y el desarrollo de los efectos**

Los datos sanitarios relacionados con las sustancias químicas que ha facilitado la Comisión Europea son preocupantes:

- En los últimos 15-20 años, se está produciendo en la UE un aumento del asma y las alergias. Uno de cada siete niños tiene asma.
- La leucemia se ha multiplicado por dos en los últimos 20 años.
- El cáncer es la primera causa de mortalidad prematura en la UE en personas menores de 65 años. El 25% de los cánceres se deben al tabaco y el otro 75% a mutaciones inducidas por factores medioambientales, fundamentalmente productos químicos.
- También se está produciendo un drástico incremento de la esterilidad masculina a partir de los 50 años y hay un 15% de parejas no fértiles en Europa, lo que va a suponer un descenso del 1% de la población al año.

**Toxicología Básica**

**Toxicología laboral**

**Toxicología Reguladora**

**Toxicología Experimental**

**Toxicología clínica**

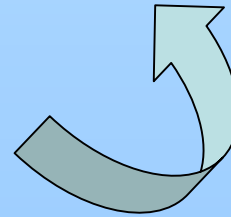
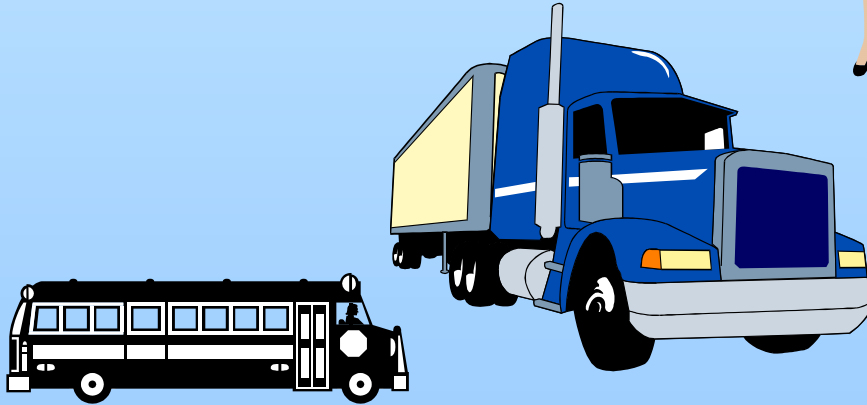
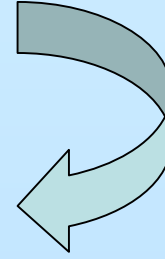
**Toxicología Alimentaria**

**Ecotoxicología**

**Toxicología Ambiental**

# Intoxicaciones

## Ambientales



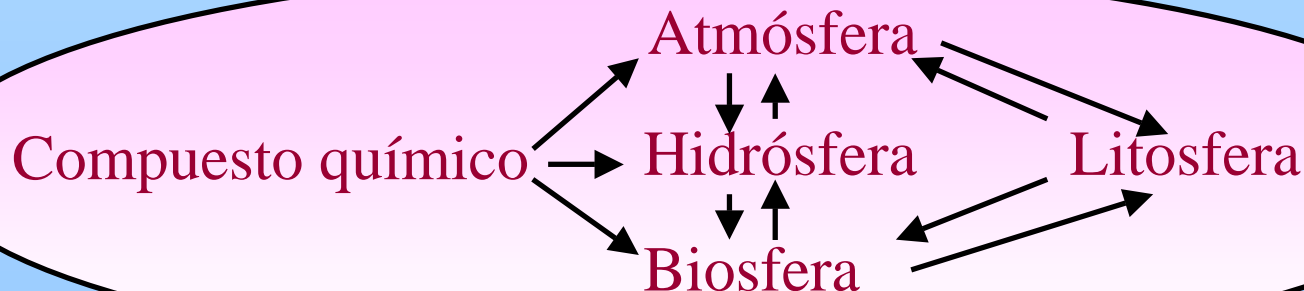
# Entrada de contaminantes en el ecosistema

## Contaminante

**Aire:** gases, vapores, partículas, aerosoles

**Agua:** arrastre o disolución de agua de lluvia, riego, aguas residuales.

**Suelo:** difusión o retención entre sus constituyentes.





# TRANSFORMACIONES ABIÓTICAS Y BIOTRANSFORMACIONES DE LOS TÓXICOS

**Tóxico → Organismo/Ecosistema → Efecto tóxico**

## **FASES DE ACCIÓN TÓXICA**

- **FASE DE EXPOSICIÓN:** La sustancia incide sobre un organismo vivo, órgano, célula, etc.
- **FASE TOXICOCINÉTICA:** absorción, distribución, fijación, biotransformación y excreción.
- **FASE TOXICODINÁMICA:** acción tóxica de la sustancia

El sistema suelo-planta y los sistemas acuáticos son los que más activamente intervienen en la transformación y degradación de los contaminantes ambientales, además de los agentes físicos naturales

## TRANSFORMACIONES ABIÓTICAS DE LOS TÓXICOS

### TIPOS:

- a) Procesos fotoquímicos
- b) Oxidación
- c) Reducción
- d) Hidrólisis
- e) Otros

# TRANSFORMACIONES BIÓTICAS O BIOTRANSFORMACIONES DE LOS TÓXICOS

Los seres vivos están expuestos a gran variedad de sustancias.

El metabolismo puede modificar de forma importante los efectos tóxicos.

Transformación bióticas= biodegradación, metabolismo de xenobióticos o **biotransformación**.

Los metabolitos pueden ser o no persistentes.

## TIPOS:

**FASE 1:** Aumenta la solubilidad del compuesto por adición de grupos funcionales polares: -OH, -NH<sub>2</sub>, -CHO, -COOH, -SH

**FASE 2:** Conjugación donde generalmente aumenta la solubilidad y excreción de los compuestos, y disminuye la toxicidad de los metabolitos más tóxicos

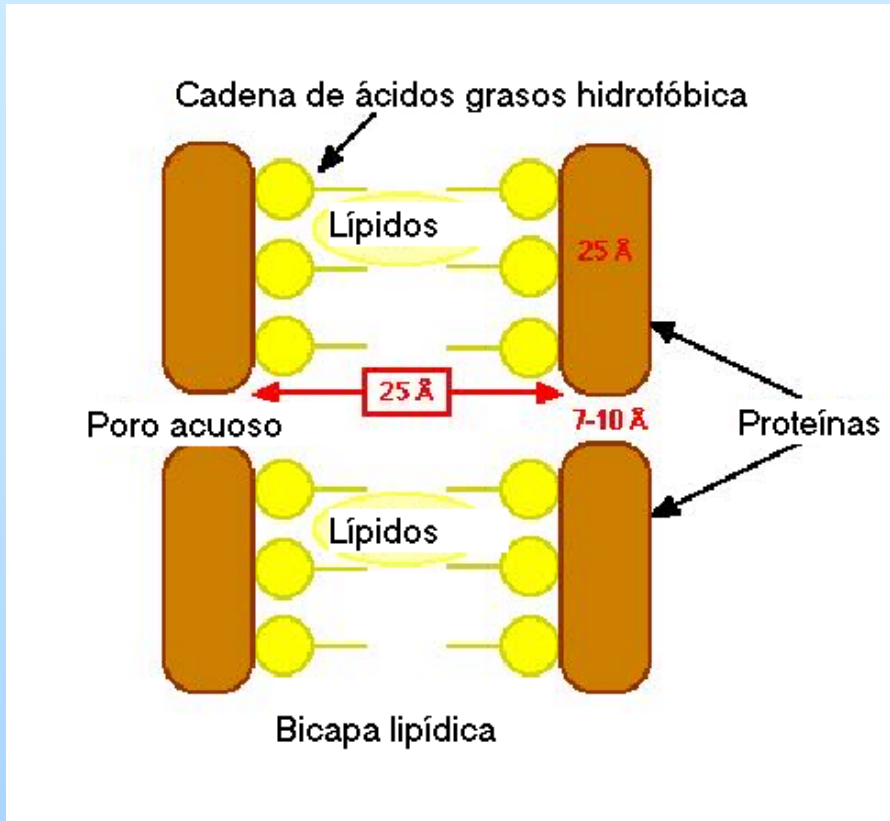
# TRÁNSITO DE UN XENOBIÓTICO POR EL ORGANISMO



# MECANISMOS DE ABSORCIÓN

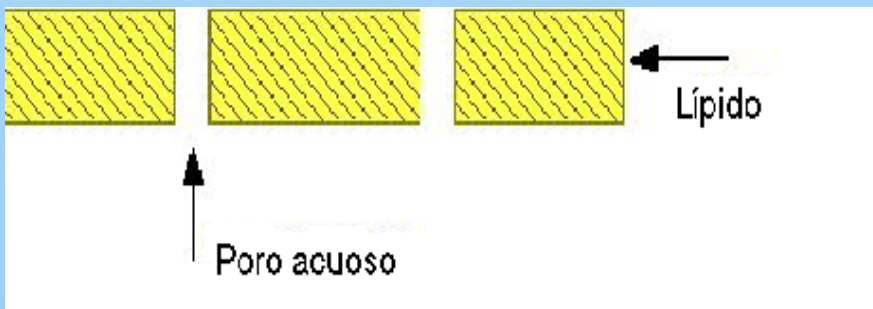
<b>PROCESO</b>	<b>MECANISMO</b>	<b>PRESION</b>	<b>GRADIENTE DE CONCENTRAC. DEPENDIENTE</b>	<b>CONDICIONES</b>
<b>Difusión pasiva</b>	<b>Dilución</b>	<b>No</b>	<b>Si</b>	<b>Liposolubilidad, Tamaño, Coeficiente reparto lípido/agua, Temperatura</b>
<b>Filtración</b>	<b>Paso por poros</b>	<b>Si</b>	<b>Si</b>	<b>Sustancia &lt; poro</b>
<b>Transporte facilitado</b>	<b>Transportador</b>	<b>No</b>	<b>Si</b>	<b>No requiere energía</b>
<b>Transporte activo</b>	<b>Portador + ATP</b>	<b>No</b>	<b>No</b>	<b>Analogía estructural Energía</b>

# TRANSPORTE PASIVO



## CARACTERÍSTICAS:

1. A FAVOR DE UN GRADIENTE DE CONCENTRACIÓN.
2. SUSTANCIAS CON ELEVADA SOLUBILIDAD EN LÍPIDOS.
3. SUSTANCIAS CON POCO GRADO DE IONIZACIÓN.
4. SUSTANCIAS DE PEQUEÑO TAMAÑO Y PM 100 – 200.(4 AMSTRONG).



# XENOBIÓTICOS

Muy liposolubles  
estables metabólicamente

Liposolubles

Polares

Hidrosolubles

Acumulación en grasas

**Fase 1:**  
bioactivación o inactivación  
oxidación, reducción, hidrólisis, hidratación

**Fase 2:**  
(bioinactivación) conjugación

Movilización extracelular

excreción biliar

circulación plasmática

excreción renal



# BIOTRANSFORMACIONES DE FASE I

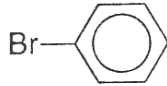
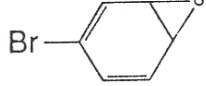
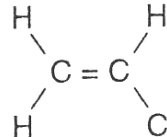
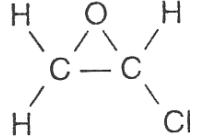
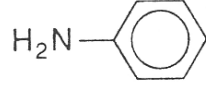
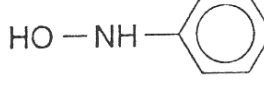
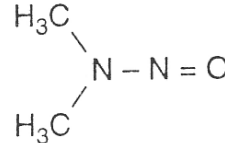
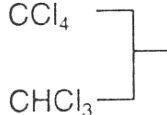
- Oxidación,

- Reducción,

- Hidrólisis

- Hidratación

# Formación de intermediarios reactivos mediante la oxidación de función mixta

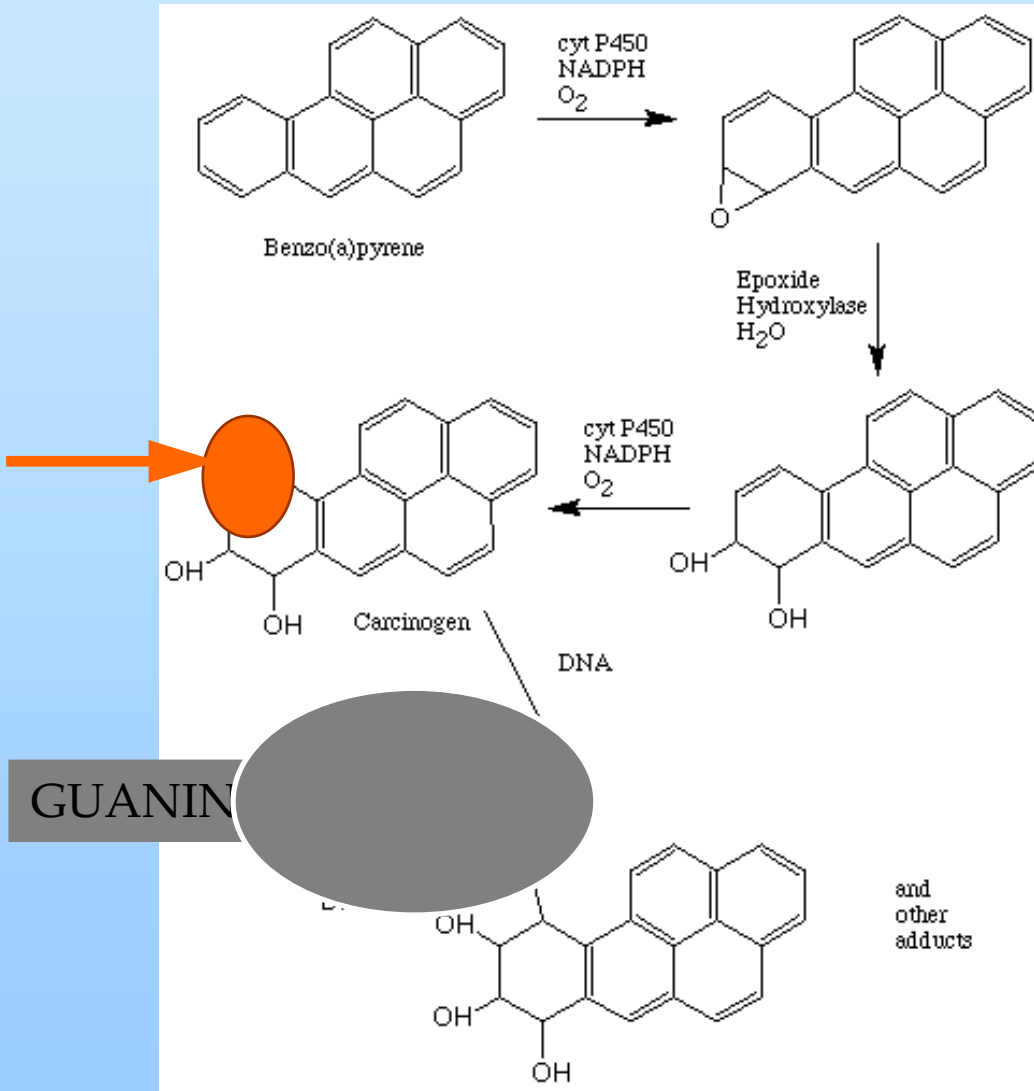
Compuesto	Fórmula	RI propuesto	
Bromobenceno			Necrosis pulmonar
Cloruro de vinilo			Cáncer de pulmón
Anilina			Metahemoglobineamia
Dimetilnitrosamina		$\text{H}_3\text{C}^+$	Carcinogénesis
Tetracloruro de carbono Cloroformo		$\cdot\text{CCl}_3$	Necrosis pulmonar Necrosis renal

RI: reactivo intermediario

# Hidrocarburo aromático policíclico

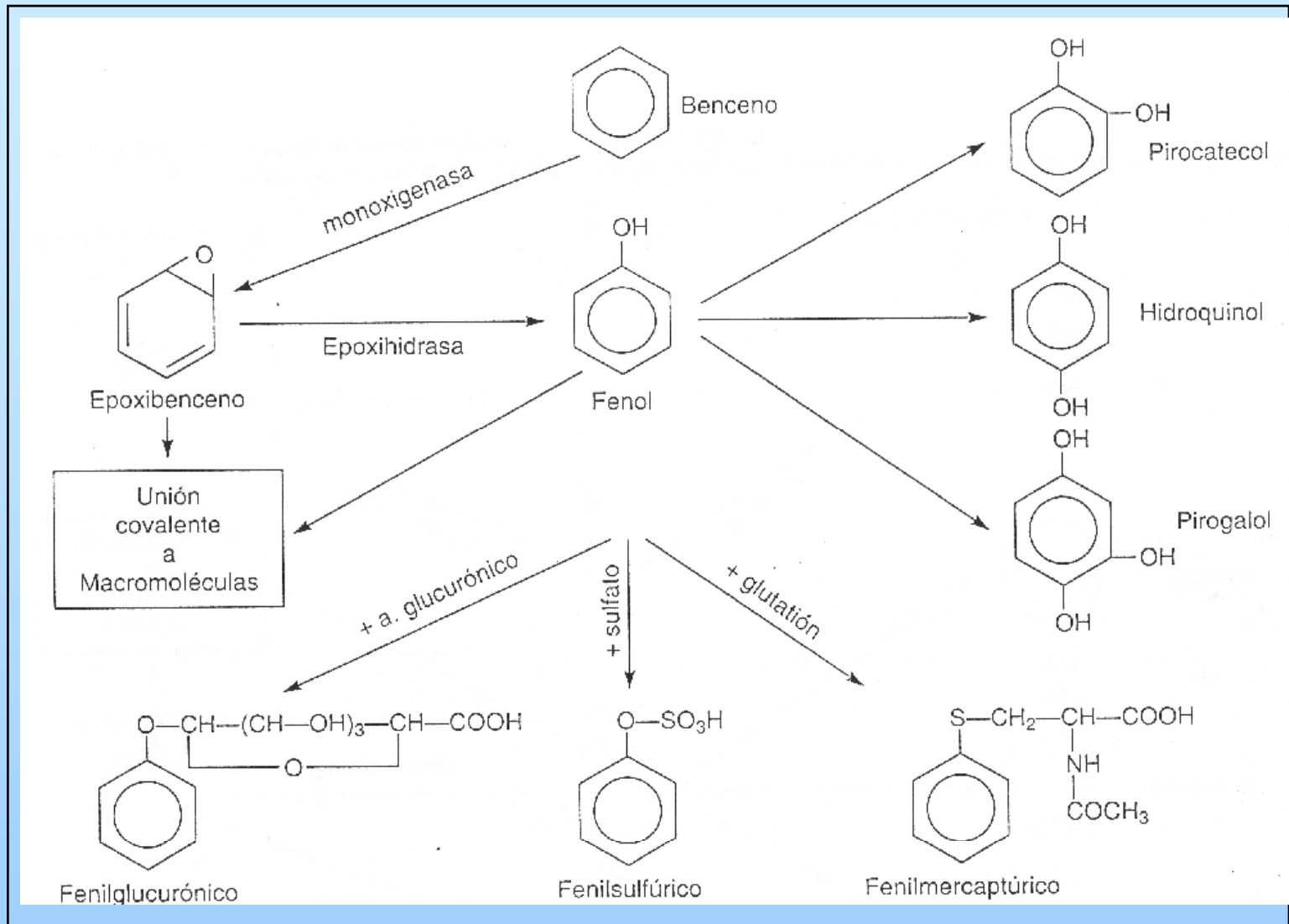
## BENZO [a] PIRENO

Activación  
cit P450:  
grupos epoxi

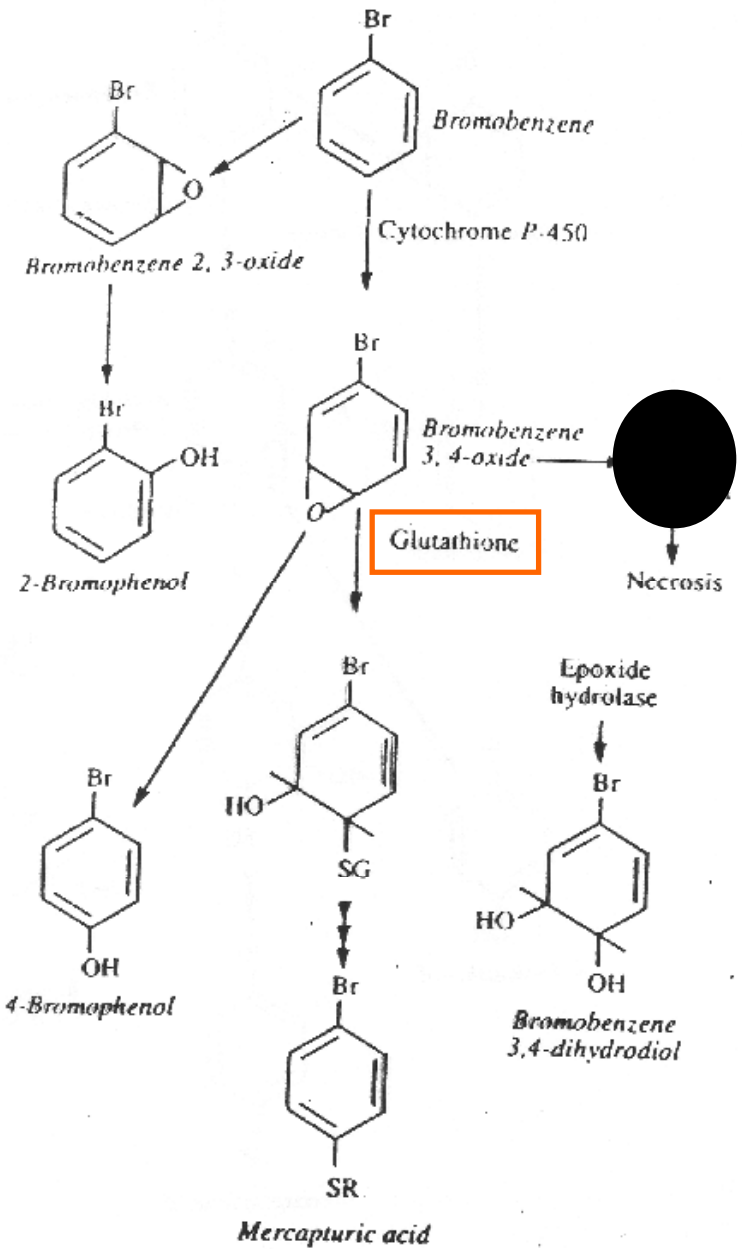


## REACCIONES DE FASE II

- GLUCURONACIÓN
- SULFATACIÓN
- CONJUGACIÓN CON GLUTATION
- ACETILACIÓN
- METILACIÓN
- CONJUGACIÓN CON AMINOÁCIDOS



Un xenobiótico pueden seguir rutas metabólicas diferentes, por tanto, puede ser metabolizado por diferentes enzimas en un mismo individuo, originando metabolitos diferentes.



Todos los seres vivos sufren reacciones con diferencias de tipo cuantitativo en la Fase 1 y de tipo cualitativo en la Fase 2, debido a los azúcares y aminoácidos que emplea.

*EL BALANCE ENTRE ESTAS RUTAS  
DETERMINA LA TOXICIDAD DEL  
COMPUESTO*

# CONTAMINANTES

## DESTINO Y ACUMULACIÓN EN EL MEDIO AMBIENTE

### Incorporación de los contaminantes a la cadenas tróficas:

\***Bioconcentración:** Aumento de una sustancia en un tejido de un organismo a partir del ambiente y en relación con sus concentraciones en él (pez más concentración en su tejido que en el agua)





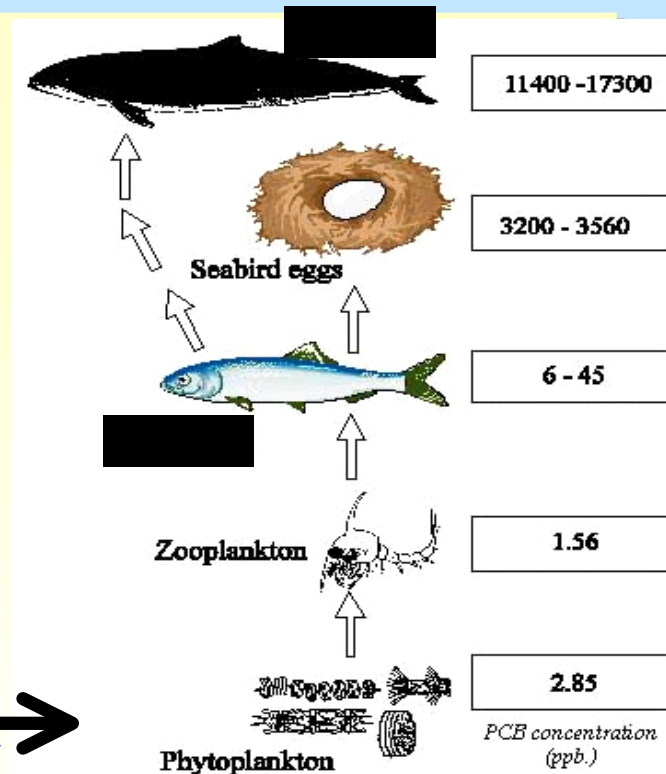
# CONTAMINANTE

## DESTINO Y ACUMULACIÓN EN EL MEDIO AMBIENTE

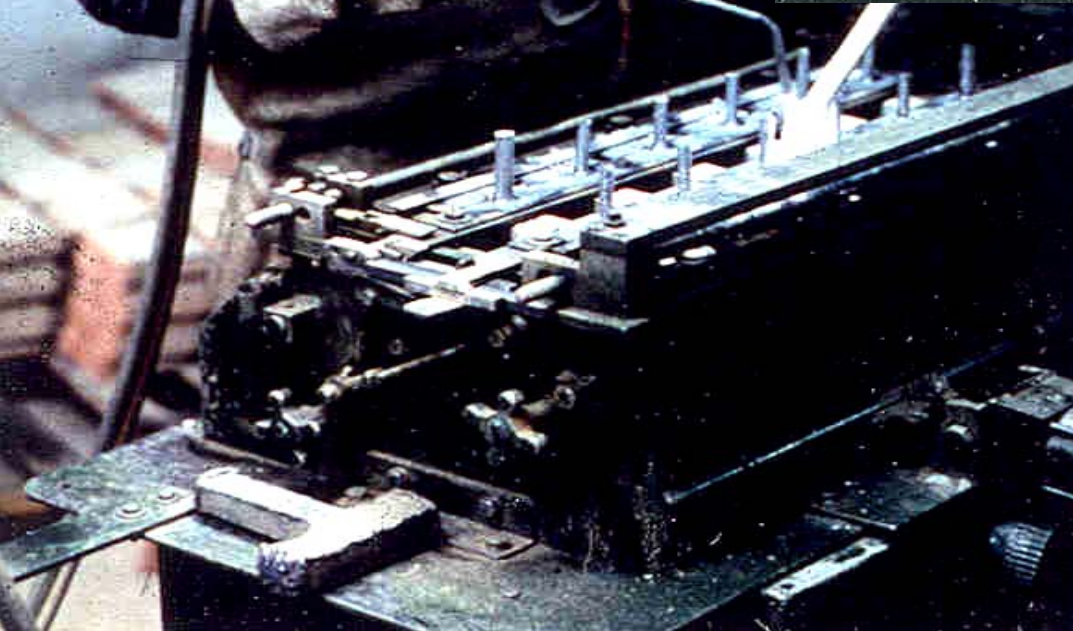
### Incorporación a la cadenas tróficas

\***Bioacumulación:** aumento progresivo (función del tiempo) de la concentración en un organismo de una sustancia que procede de su medio ambiente (mayor concentración en adulto que en niños)

\***Biomagnificación:** secuencia de procesos en un ecosistema por medio de la cual la concentración de una sustancia aumenta progresivamente en los organismos de nivel trófico más elevada.



*The concentration of PCB's tends to increase in the tissues of organisms at higher levels in the marine food chain, a phenomenon termed 'biomagnification'. [From: Percy, Wells and Evans MS, 1996: see Further Reading]*



# Intoxicaciones Laborales

# Toxicología Laboral

Vías de entrada en las intoxicaciones profesionales: sistema respiratorio y la piel.



- Intoxicaciones profesionales normalmente son crónicas.
- En la Toxicología Laboral es muy frecuente la mezclas de tóxicos.

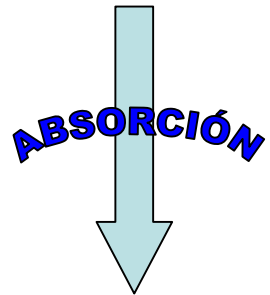
Fenómenos de interacción entre tóxicos

Interacciones biológicas pueden ser por exposiciones simultáneas o sucesivas.

El  $\text{CCl}_4$  y el DDT ejercen una acción antagonista sobre el SNC, ya que el primero es un depresor y el segundo un estimulante. Sus acciones tóxicas sobre el hígado son aditivas o sinérgicas.

**VIGILANCIA DEL AMBIENTE**

Sustancias en el ambiente

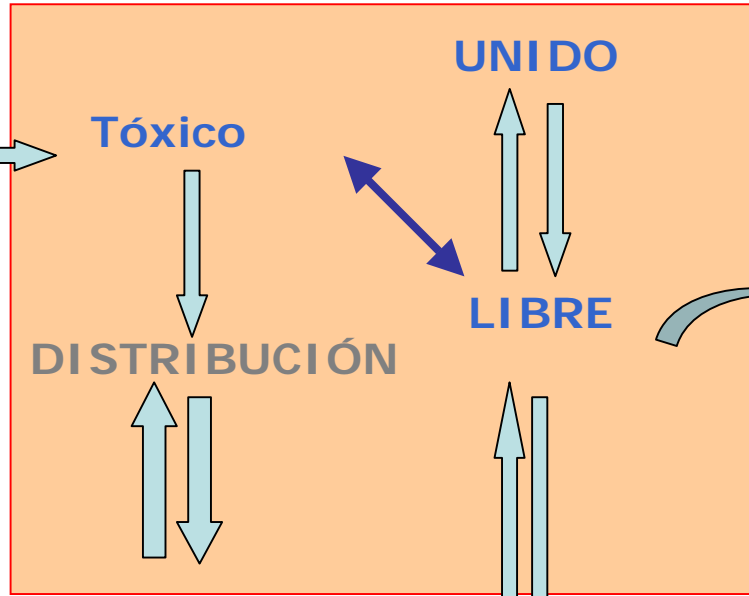


**VIGILANCIA BIOLÓGICA (dosis interna)**

Sustancias en el organismo



**SANGRE**



**EFECTOS TÓXICOS**

Lesiones preclínicas



Síntomas clínicos

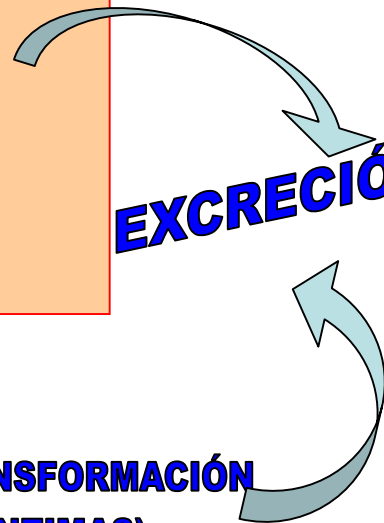
**DETECCIÓN DE EFECTOS TÓXICOS**



**TEJIDOS**

**EXCRECIÓN**

**BIOTRANSFORMACIÓN (ENZIMAS)**



## **Vigilancia del ambiente**

Se compara los valores de exposición con las concentraciones atmosféricas admisibles.

Evaluación a un grupo de trabajadores o individual.

## **Vigilancia biológica de la exposición**

Se compara con una concentración biológica permisible.

Se mide la sustancia o sus metabolitos.

Evaluación individual.

**Descubrir las situaciones de exposición.**

## **Detección de efectos tóxicos**

Evaluar el estado de salud de los individuos con el fin de identificar a quienes ya presentan manifestaciones de intoxicación.  
**Programa de diagnóstico precoz de alteraciones de estado de salud.**

# Evaluación de la exposición

Para las sustancias que ingresan en el organismo por inhalación: **CONCENTRACIÓN ADMISIBLE EN EL AIRE** (concentración que no constituya un riesgo inaceptable para los trabajadores expuestos)



**ANÁLISIS EN EL MEDIO BIOLÓGICO** de los sujetos expuestos (sangre, orina, aire expirado, etc.). Cantidad de sustancia tóxica absorbida o descubrir efectos relacionados con la dosis interna de tóxico.

# Valores límite



La Ley 31/1995 de Prevención de Riesgos Laborales y el RD 39/1997 por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención, señala la necesidad de disponer valores límite de para poder realizar la valoración de riesgos frente a los agentes químicos.

Límites de Exposición Profesional:

VALORES LÍMITE AMBIENTAL (VLA)

VALORES LÍMITE BIOLÓGICOS (VLB)

*La lista de los valores límite adoptados será ampliada y revisada anualmente.*

# Evaluación toxicológica

## Evaluación toxicológica:

### Estudios de relación estructura-actividad previos

PM, estructura, solubilidad, estabilidad, pH, sensibilidad, electrofilia, volatilidad y reactividad química, etc.

Los métodos más efectivos son modelos moleculares tridimensionales (3D) y el establecimiento de las relaciones cuantitativas y tridimensionales entre estructura y actividad (3D-QSAR).

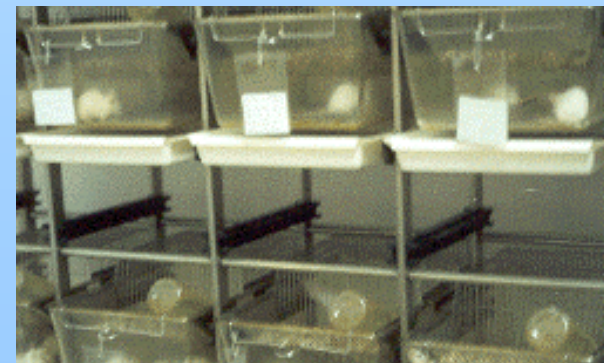
### Métodos *in vitro*

### Estudios epidemiológicos

### Estudios clínicos controlados

### Estudios experimentales con animales

### Estudios ecotoxicológicos





## ESTUDIOS EPIDEMIOLÓGICOS

### VENTAJAS

Exposición real  
Interacción entre diversos agentes  
Efectos en humanos  
Diversos grupos de población

### DESVENTAJAS

Coste y tiempo consumido  
Conocimiento *a posteriori*  
Dificultad para valorar  
incremento del riesgo  
Efectos medidos ordinarios

## ESTUDIOS CLÍNICOS CONTROLADOS

### VENTAJAS

Condiciones controladas de exposición  
Respuesta en humanos  
Estudio de grupos especiales  
Apreciar efectos subletales

### DESVENTAJAS

Coste  
Estudios a bajas concentraciones  
Grupos pequeños  
Estudios a corto plazo de efectos  
menores y reversibles  
Usualmente no se estudian los grupos más  
susceptibles

## ESTUDIOS CON ANIMALES

### VENTAJAS

Condiciones de exposición manipuladas  
Se estudian muchos tipos de efectos  
Posibilidad de evaluar factores diversos  
Posibilidad de evaluar mecanismos

### DESVENTAJAS

Incertidumbre en la extrapolación  
Control de parámetros excesivo  
Concentraciones de exposición y tiempos  
especiales

## **Los ensayos de toxicidad en animales se apoyan en dos principios fundamentales:**

1º) Los efectos que el tóxico produce en animales de experimentación son extrapolables a humanos.

2º) La exposición de animales de experimentación a dosis altas de agentes tóxicos es un método válido para descubrir posibles riesgos en humanos.

# **Ensayos toxicológicos. Diseño**

## **CONSIDERACIONES EN EL DISEÑO DE UN ENSAYO TOXICOLÓGICO**

**Recogida de información**

**Propiedades físico-químicas de la sustancia a estudiar**

**Especie animal de experimentación**

**Número total de animales de experimentación**

**Selección de la vía de administración del agente tóxico**

**Duración del estudio toxicológico**

**Ensayo estadístico de los datos**

## Animales de experimentación


En 1927, el biólogo británico Trevan, estandarizo y sistematizo los ensayos con animales para obtención de toxicidad aguda.



# Ensayos toxicológicos. Diseño

## Tiempo de duración del estudio toxicológico

- Toxicidad aguda
- Toxicidad de dosis repetidas

- 
- **Toxicidad aguda:** 1 única dosis
  - **Toxicidad a medio plazo:** dosis durante 90 días
  - **Toxicidad a largo plazo:** dosis durante 2-5 años

## Estudio estadístico

- **Determinar si la distribución de la respuesta de los grupos tratados difiere de los obtenidos en el grupo control.**

# Ensayos toxicológicos

## Ensayo de toxicidad aguda

### Debe:

- Realizarse una observación previa de los animales y una selección por pesos.
- Mantener a todos los animales en ambiente idéntico (5 días antes del ensayo)
- Administrar el tóxico a la misma hora, para evitar influencias ambientales y los ritmos circadianos.

# Ensayos toxicológicos

## Ensayo de toxicidad aguda

Toxicidad aguda es la capacidad de una sustancia para producir un efecto adverso con una **única dosis**.  $DL_{50}$  o  $CL_{50}$

$DL_{50} < 25$  mg/kg



Sustancia muy tóxica

$DL_{50} > 5000$  mg/kg



Sustancia con muy baja toxicidad

CATEGORIA	$DL_{50}$ oral rata mg/Kg	$DL_{50}$ cutánea rata o conejo mg/Kg	$CL_{50}$ inhalatoria en rata mg/L, 4 hr
Muy tóxicas	<25	<50	<0.50
Tóxicas	25-200	50-400	0.50-2
Nocivas	200-2000	400-2000	2-20

# Ensayos toxicológicos

## Ensayo de toxicidad aguda

La OCDE realiza revisiones periódicas actualizando las líneas directrices a los progresos científicos.

En 1984, la sociedad británica de toxicología redacta la línea directriz 420 validada en 1992.

### Orden PRE 1244/2006



Línea directriz **420 y 423** (2001).

Método de dosis fijas y de las clases de toxicidad aguda por vía oral

Administración por sonda intragástrica en una sola toma.

El animal estará en ayunas de 12 horas.





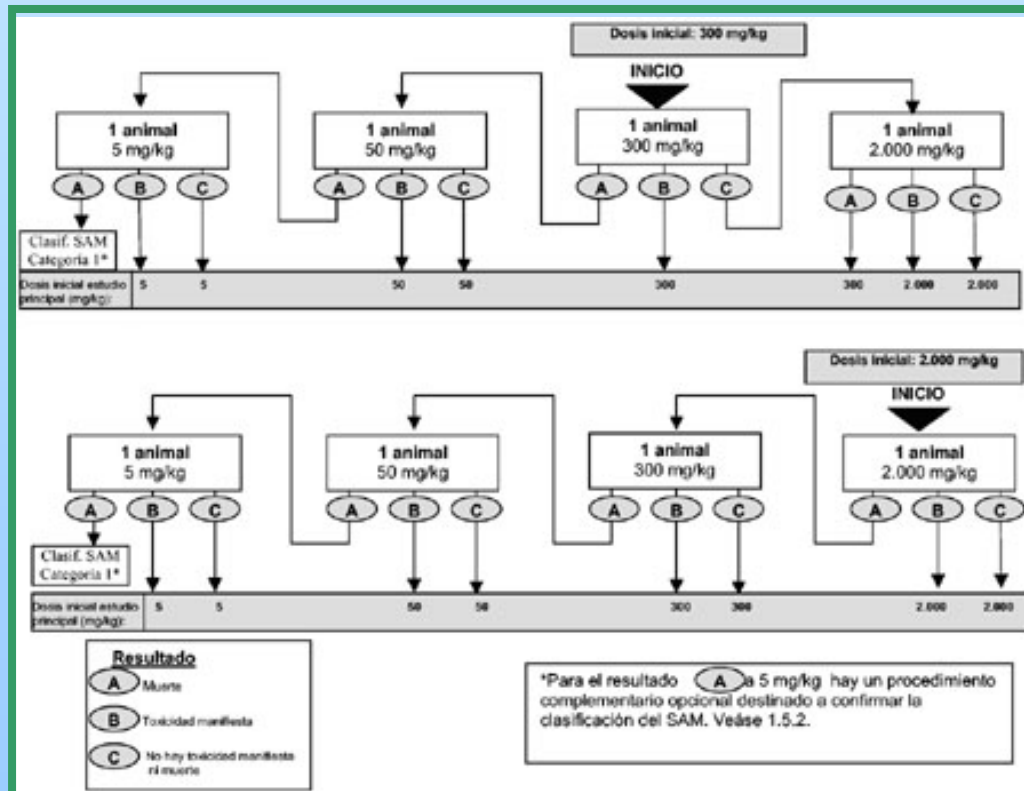
# Ensayos toxicológicos. Tipos

## Ensayo de toxicidad aguda

### Método de dosis fijas: ensayo preliminar

Animal 1  
Dosis: 300 mg/kg

A: muerte (clase 1)  
B: toxicidad evidente (Estudio principal)  
C: sin evidencia de toxicidad, (se pasa a la siguiente escala)



# Ensayos toxicológicos. Tipos

## Ensayo de toxicidad aguda

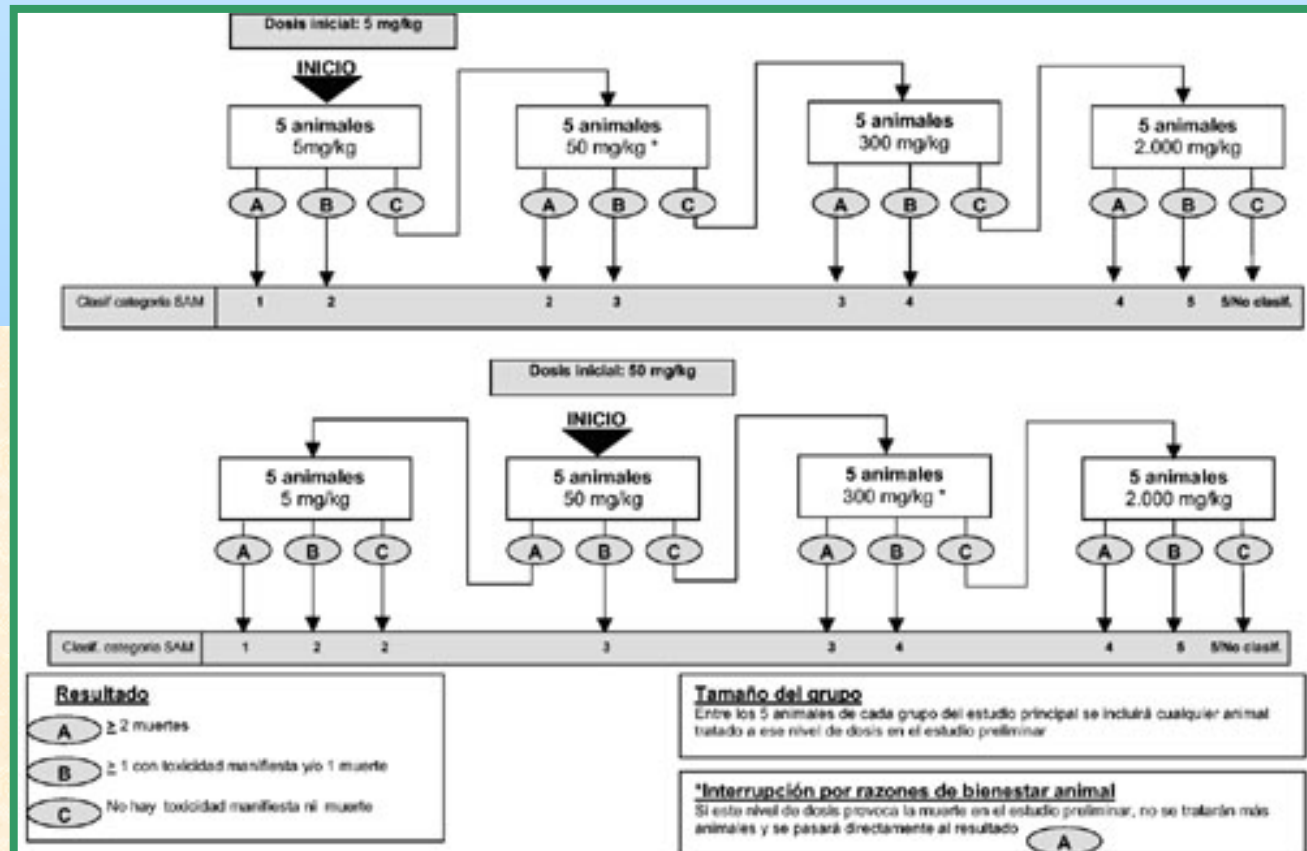
### Método de dosis fijas: estudio principal

A: muerte  $\geq 2$  (clase 1)

B:  $\geq 1$  toxicidad evidente y/o 1 muerte (clase 2)

C: sin evidencia de toxicidad, (se pasa a la siguiente escala)

Animales 5  
Dosis: 5 mg/kg



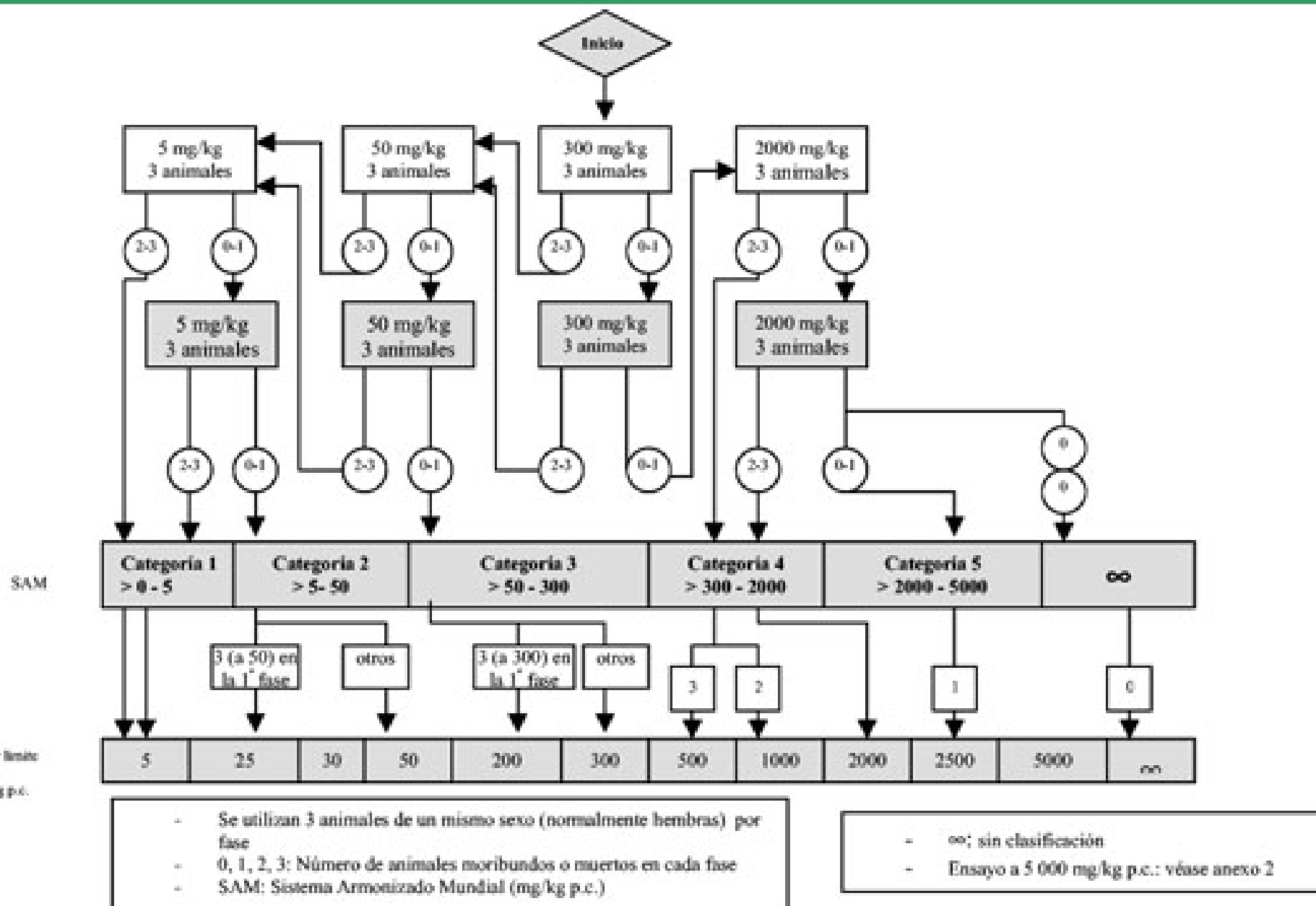
# Ensayos toxicológicos. Tipos

## Ensayo de toxicidad aguda

**Método de las clases de toxicidad aguda por vía oral**

5, 50, **300** y 2000 mg/kg.

# Método de las clases de toxicidad aguda



# ENSAYOS ESPECIALES EN PIEL Y OJOS

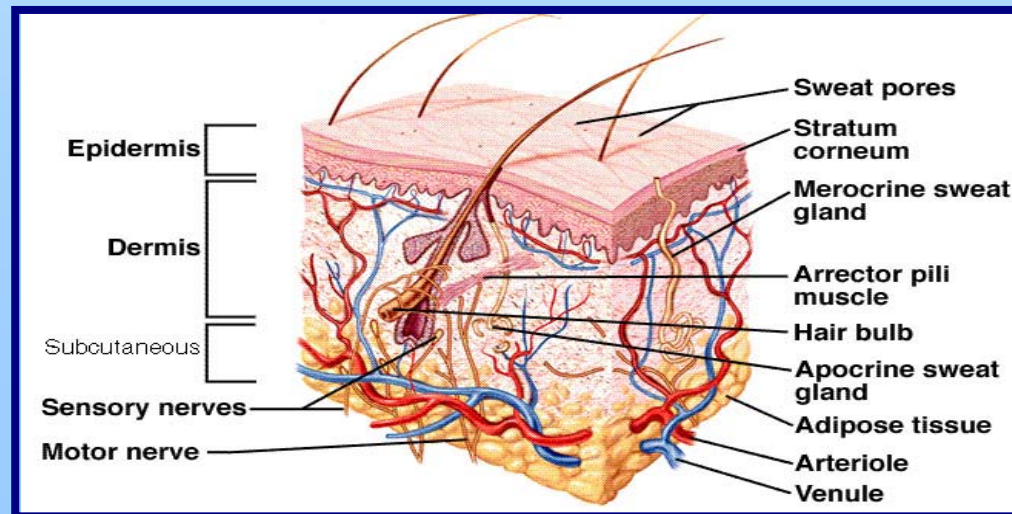
Ensayos en piel  
Ensayos en ojos



Productos irritantes- corrosivos

**Irritante dérmico:** provoca lesiones reversibles de la piel aplicada durante 4 horas.

**Corrosivo dérmico:** provoca una destrucción de la piel con necrosis desde la epidermis hasta la dermis.



# ENSAYOS ESPECIALES EN PIEL Y OJOS

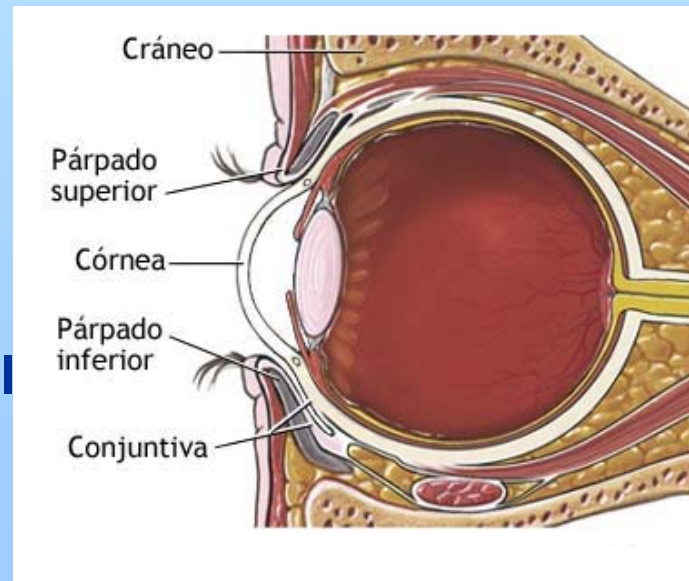
Ensayos en piel  
Ensayos en ojos



Productos irritantes- corrosivos

**Irritante ocular:** provoca cambios reversibles de la córnea, iris o conjuntiva después de la aplicación de una sustancia en la superficie anterior del ojo.

**Corrosivo ocular:** provoca lesión irreversible del ojo o pérdida de la visión después de la aplicación de una sustancia en la superficie anterior del ojo.



## Test de Draize



Hinchazón,  
inflamación del iris,  
ulceración, sangrado,  
deterioro masivo y  
ceguera

- ✓ Agresividad método
- ✓ Sociedades protectoras de animales y consumidores
- ✓ Dificultad en reproducibilidad de estudios con animales
- ✓ Dificultad de demostrar efectos nocivos leves

**Desarrollo de métodos alternativos a la experimentación animal  
(cultivos celulares, órganos aislados, proteínas)**

# ENSAYOS SOBRE PIEL Y OJOS

UE y OCDE

## Protocolo jerarquizado

1. Propiedades físico-químicas y pH:  
ácidos y bases fuertes



2. Ensayos *in vitro* validados



3. Ensayos *in vivo*

Si el tóxico es considerado irritante severo por sus características físico químicas o mediante ensayos *in vitro* no se ensaya con animales.





# ENSAYOS SOBRE PIEL Y OJOS

## Orden Ministerial 1244/2006

No pruebas *in vivo* hasta que se hayan evaluado todos los datos relevantes sobre el potencial de corrosión/irritación.

- Ⓢ Estudios existentes realizados con seres humanos o con animales de laboratorio,
- Ⓢ Corrosión/irritación por parte de una o más sustancias relacionadas estructuralmente o por una mezcla de las mismas,
- Ⓢ Elevada acidez o alcalinidad de la sustancia
- Ⓢ Pruebas *in vitro* validadas y aceptadas.

## ENSAYOS SOBRE LA PIEL

**Efectos**

- a) Irritación
- b) Corrosión
- c) Fototosensibilidad:
  - c.1) Fototoxicidad
  - c.2) Fotoalergia

Concentración agente tóxico → Irritante y/o corrosivo  
Frecuencia agresión

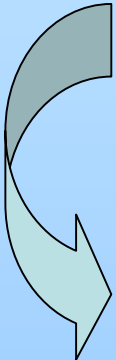
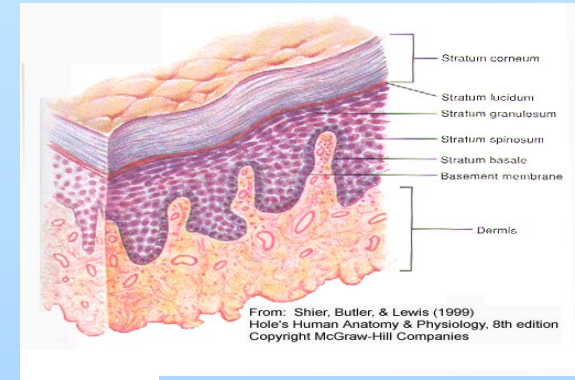
**Determinación efectos tópicos y sistémicos**

# ENSAYOS SOBRE LA PIEL

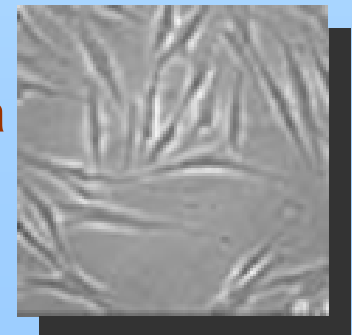
## Tipos de ensayos sobre la piel

### *In vitro:*

- imitar función barrera estrato córneo
- imitar características morfológicas, bioquímicas y funcionales de la piel.



Los queratinocitos humanos se cultivan en una interfase aire/líquido unidos a una matriz biológica (dermis o una matriz de colágeno) y se forma una epidermis diferenciada con una capa de estrato corneo.

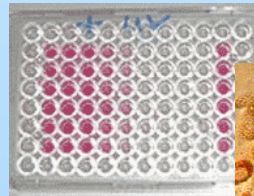


# ENSAYOS ESPECIALES SOBRE LA PIEL

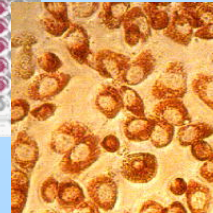
## *In vitro*

### *Ensayos de Irritación Dérmica*

- Cultivos celulares: RN, MTT
- Sin cultivo celular: Microtox



RN



### *Ensayos de Corrosión Dérmica*

- Cultivos celulares: EPISKIN
- Sin cultivo celular: CORROSITEX, TER



(OM 1244/2006)

EPISKIN: preparación del cultivo de piel

## Tipos de ensayos sobre la piel

***In vivo***, con animales de experimentación.

**OM 1244/2006**

- Rata o Conejo albino
- Aplicar la sustancia a una pequeña zona de piel
- Máximo tres aplicaciones secuenciales (en sustancias irritantes 1 aplicación). Sustancia corrosiva: suspensión de prueba. Sustancia no corrosiva: se confirma la acción irritante.
- Observación durante 14 días



## Tipos de ensayos sobre la piel

Evaluación respuestas eritema y edema, 60 minutos, 24, 48 y 72 horas de la retirada de la aplicación

Sin eritema	0
Eritema ligero	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado a grave	3
Eritema grave	4



## *Fotosensibilidad: fototoxicidad y fotoalergia*

### **Fototoxicidad**

El tóxico absorbe luz UV, se excita y al volver a su estado normal libera energía dañando la piel



Aguda: vesículas, enrojecimiento

Crónica: hiperpigmentación y engrosamiento de la zona afectada

### **Fotoalergia: reacción inmunológica. Reac. Ag-Ac**

La sustancia absorbe luz UV y se convierte en un antígeno. Requiere sensibilización previa.

Ejemplos: **Aditivo alimentario E-127 (eritrosina: colorante rojo)**

# ENSAYOS ESPECIALES SOBRE LA PIEL

## Tipos de ensayos de fotosensibilidad

***In vitro:***

### Fototoxicidad: Rojo Neutro en células 3T3 OM 30/6/1998

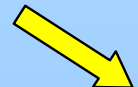
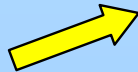
2 Placas de 96 pocillos

Incubación 1h con el tóxico  
(8 concentraciones)

Balb/c 3T3

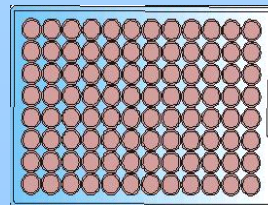
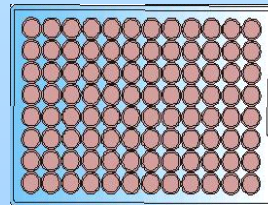


Incubación 24h



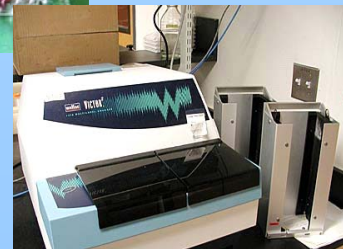
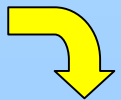
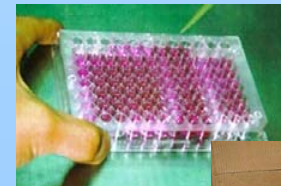
1 h

5 J/cm<sup>2</sup> UVA



oscuridad

Rojo Neutro





# ENSAYOS ESPECIALES SOBRE LA PIEL

## Tipos de ensayos de fotosensibilidad

***In vivo:***

**cobayas** Dermatitis alérgica de contacto

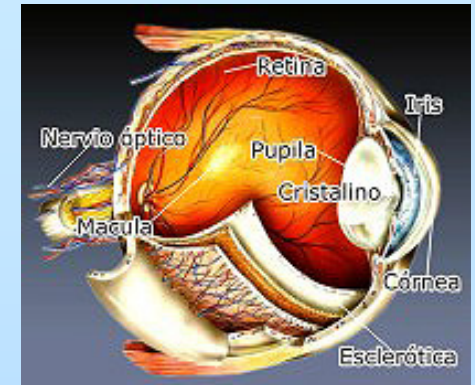


- **Exposición de inducción**
- **Periodo de inducción (10-14 días)**
- **Exposición de provocación (24 h)**

### Escala de clasificación de Magnusson y Kligman para evaluar las reacciones del ensayo con parche de provocación

0	sin cambios visibles
1	eritema ligero o en manchas localizadas
2	eritema moderado y confluyente
3	eritema intenso y tumefacción

# ENSAYOS ESPECIALES OJOS



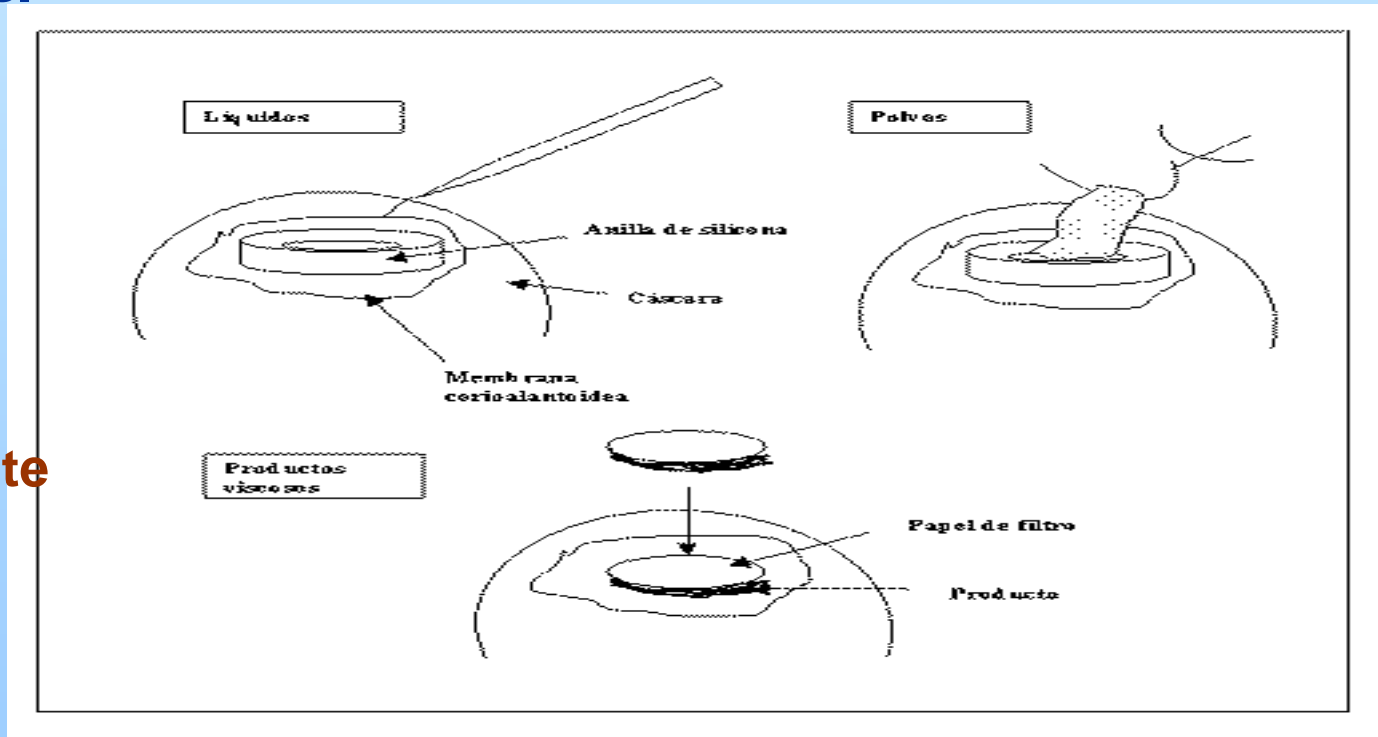
## *In vitro:*

- Irritación ocular: fenómeno complejo, **difícil de reproducir *in vitro***
- Irritación en conjuntiva, córnea e iris (con características histológicas diferentes).
- Existen 6 estudios de validación *in vitro* para irritación ocular, pero no se han obtenido resultados esperanzadores.
- Algunos países han aceptado para la evaluación de la irritación ocular producida por cosméticos el ensayo de la membrana corioalantoidea de embrión de pollo (HET-CAM).

# ENSAYOS ESPECIALES OJOS

## Membrana corioalantoidea huevo gallina (HET-CAM)

Aplicación de productos líquidos, sólidos y viscosos.



- No irritante
- Ligeramente irritante
- Irritante moderado
- Irritante severo

# ENSAYOS SOBRE LOS OJOS

## *Ensayos con animales*

### **Test irritación ocular- OM 1244/2006**

Se incluyen procedimientos para evaluar los efectos en los ojos.



- **Aplicación sustancia: ensayo inicial y de confirmación**
- **Examen 1, 24, 48 y 72 horas y 21 días según una clasificación numérica**
- **Grado de reacción ocular (conjuntiva, córnea e iris).**
- **Otras lesiones oculares (queratitis vascular, manchas oculares) o efectos sistémicos adversos.**

## **ESTUDIOS EPIDEMIOLÓGICOS**

## **MÉTODOS ALTERNATIVOS**

## **ENSAYOS SOBRE ORGANISMOS ACUÁTICOS**

1. TOXICIDAD UNA ESPECIE
2. TOXICIDAD MULTIESPECIE
3. TOXICIDAD DE SEDIMENTOS
4. TOXICIDAD DE EFLUENTES
5. FITOTOXICIDAD
6. BIOCONCENTRACIÓN

## **ENSAYOS SOBRE ORGANISMOS TERRESTRES**

1. ENSAYOS CON AVES
2. ENSAYOS CON MAMÍFEROS
3. INSECTOS Y ARTRÓPODOS
4. ANFIBIOS
5. LOMBRICES DE TIERRA
6. PLANTAS

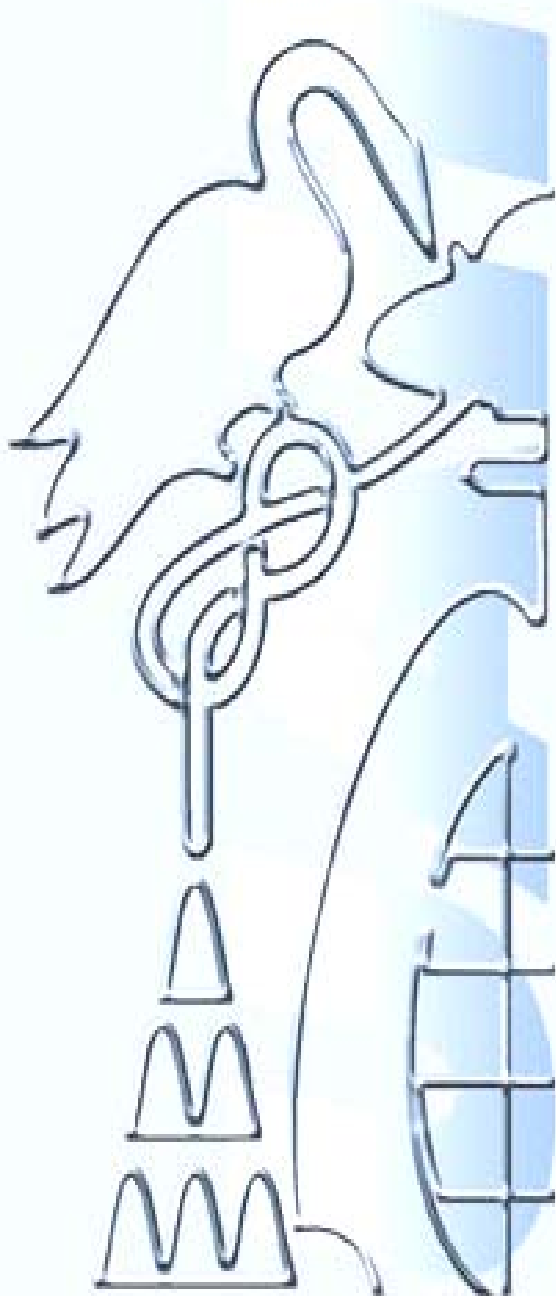
## **CONTAMINACIÓN DEL AIRE**

# BIBLIOGRAFÍA

- Arquer Pulgar MI, Bartual Sánchez J, Bernal Domínguez F, Bestraten Belloví M, Cuscó Vidal JM, Gadea Carrera E, Guardino Sola X, Moliné Marco JL, Piqué Ardanuy T, Solé Gómez MD. Riesgo químico. 3 ed, Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, Madrid (2005).
- Ballantine B, Marss T, Syversen T (2000). Fundamentals of toxicology. En: General and applied toxicology. Ballantine B, Marss T, Syversen T (Eds). McMillan Reference Ltd., London, pp: 1-32.
- Cotgreave IA, Mongenstern R, Jernström B, Orrenius S (2000). Current molecular and cellular concepts in toxicology. Ballantine B, Marss T, Syversen T (Eds). McMillan Reference Ltd., London,, pp: 121-151.
- Crosby DG (1998). Environmental toxicology and chemistry. Oxford University Press.
- Hayes AW. (2007) Principles and Methods of Toxicology. Fifth ed. CRC Press, Andover.
- Hoffman DJ, Burton DA, Rattner BA (2003). Handbook of Ecotoxicology, Lewis Publishers, CRC Press LCC, Boca Raton, Florida.
- DiPasquale LC, Hayes AW 2001 Acute toxicology and eye irritancy En: Hayes A.W. Principles and Methods of Toxicology. Taylor & Francis 4ºed., London, pp. 853-917.

# BIBLIOGRAFÍA

- Moreno Grau MD (2003). Toxicología ambiental. Evaluación del riesgo para la salud humana. McGraw Hill, Madrid.
  - Repetto M. 2004. Evaluación Toxicológica y de Riesgos Específicos. En: Toxicología de Postgrado. Repetto M y col. Área de Toxicología, Universidad de Sevilla, CD-ROM, Sevilla.
  - Rose J (1998). Environmental toxicology. Current developments. Gordon and Breach science publishers. Amsterdam.
  - Spiro TG, Stighiani WM (2004). Química ambiental. Pearson Prentice Hall,
  - Walker CH, Hopkin SP, Civil RM, Peakall DB (2001). Principles of ecotoxicology. Taylor and Francis, Londres.
- <http://aetox.es>



# VALORACIÓN DE LOS PELIGROS PARA LA SALUD HUMANA

**Dra. María José González Muñoz**  
**Dpto Nutrición, Bromatología y Toxicología**  
**Universidad de Alcalá**



Nuevos productos químicos

EXPOSICIÓN

RIESGO

PREVENCIÓN  
(Sanidad ambiental)

Ignorancia toxicológica

Legislación inexistente o de difícil aplicación

Nuevas metodologías en la evaluación del riesgo



# ¿Qué es una evaluación de riesgo?

- ✚ Proceso cualitativo y cuantitativo válido para caracterizar la naturaleza y magnitud del riesgo sobre la salud derivado de la exposición a sustancias peligrosas presentes en el medio

# ¿En qué consiste?

- Recopilación de información sobre los efectos tóxicos de una sustancia química
- Evaluación de información para determinar el posible riesgo asociado con la exposición

# Comparación de modelos para evaluar y manejar el riesgo

## Comparación de modelos para evaluar y manejar el riesgo

SCOPE (1980)	NRC/EPA (1983)	Royal Society, UK (1983)	ICTC, Health and Welfare, Canada (1984)	OMS (1985)
Identificación del riesgo	Identificación del peligro	Estimación del riesgo	Identificación del peligro	Identificación del peligro
Estimación del riesgo	Evaluación de la dosis-respuesta Evaluación de la exposición Caracterización del riesgo		Estimación del riesgo	Estimación del riesgo
Evaluación del riesgo	Desarrollo de opciones regulatorias Evaluación de opciones	Evaluación del riesgo	Desarrollo de alternativas de acción Análisis de decisiones	Evaluación del riesgo
Manejo del riesgo	Adopción de decisiones y acciones	Manejo del riesgo	Implementación Monitoreo y evaluación Revisión	Manejo del riesgo

# **Etapas de la evaluación de riesgo**



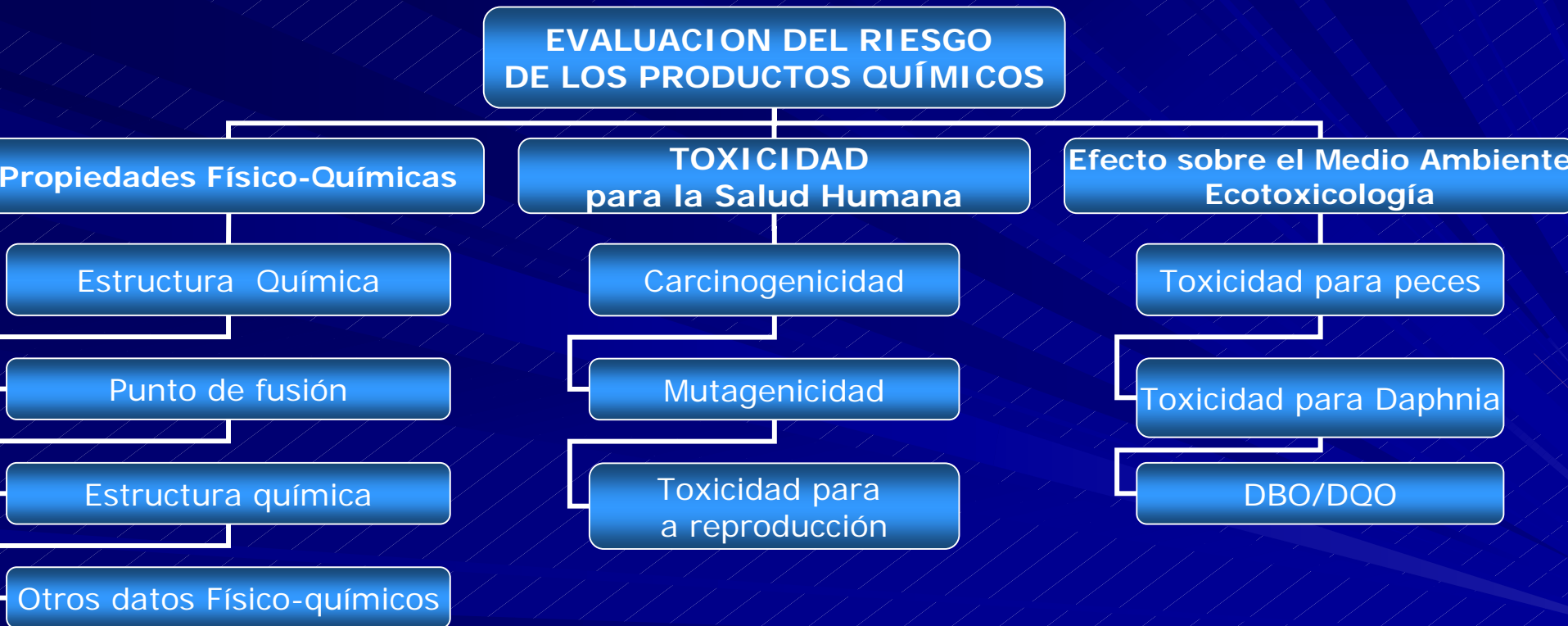
# Proceso de evaluación de riesgo

1. Identificación del peligro
2. Evaluación de la exposición
3. Evaluación del peligro o de la dosis-respuesta
4. Caracterización del riesgo

# Identificación del peligro

- Recopilación de datos
  - Varias fuentes
  - Estudios de toxicología y epidemiología
- La información debe contestar:
  - ¿Produce efectos nocivos la exposición a la sustancia?
  - ¿Si sí, cuáles son las circunstancias asociadas a la exposición?

# Identificación del peligro





# Identificación del peligro

- Nombre de la sustancia
- Propiedades químicas y físicas de la sustancia
- Fuente de la información de toxicidad
  - Estudios epidemiológicos
  - Estudios experimentales en animales
  - Pruebas de corta duración in vitro
  - Estudios de relación estructura química/actividad biológica

# Identificación del peligro

## ■ Estudios epidemiológicos

- Asociación positiva entre exposición y enfermedad
- Estudios de prevalencia, casos-control-retrospectivos, de cohortes (longitudinales)
- Inconveniente: el efecto adverso ha ocurrido

## ■ Estudios experimentales en animales

- Desventajas: difícil extrapolación (diferencia de dosis); diferencias de efectos (talidomida), costosos

## ■ Pruebas de corta duración in vitro

- Mutaciones (test de Ames), alteraciones DNA

## ■ Estudios de relación estructura química/actividad biológica

# DEPENDENCIA DE LOS ENSAYOS REQUERIDOS POR TONELAJE

Volumen (toneladas/año)	Ensayos requeridos
1-10	Métodos <i>in vitro</i>
10 – 100	Ensayos Básicos
100 – 1000	Ensayos Básicos + ensayo nivel 1 (ensayo a medida de larga duración para una determinada sustancia)
> 1000	Ensayos Básicos + ensayo nivel 2 (ensayo adicional a medida de larga duración para una determinada sustancia)

# ENSAYOS BÁSICOS REQUERIDOS PARA LOS OBJETIVOS DE SALUD HUMANA

## ➤ Toxicidad aguda

Oral, Dérmica. Por inhalación. Irritación cutánea y ocular.  
Sensibilización dérmica.

## ➤ Toxicidad a corto plazo, dosis repetidas (28 días)

(oral, dérmica, inhalación)

## ➤ Estudios de mutagenicidad y genotoxicidad (in vitro, in vivo)

Anexo VII A, B y C de la Directiva 67/548/CEE

# NIVEL 1. ENSAYOS REQUERIDOS PARA LOS OBJETIVOS DE SALUD HUMANA

## ➤ Toxicidad subcrónica y/o crónica (2 especies)

➤ Toxicidad para la función reproductora (teratogenicidad, fertilidad)

➤ Estudios de mutagenicidad adicional (células somáticas o germinales)

## ➤ Toxicocinéticas

Anexo VIII de la Directiva 67/548/CEE

## NIVEL 2. ENSAYOS REQUERIDOS PARA LOS OBJETIVOS DE SALUD HUMANA

- Toxicidad crónica
- Carcinogenicidad
- Toxicidad del desarrollo
- Estudios de fertilidad
- Estudios de mutagenicidad adicional
- Toxicidad de órganos adicionales o sistémicos

Anexo VIII de la Directiva 67/548/CEE

## ENSAYOS DE ECOTOXICIDAD

- Toxicidad aguda para peces
- Toxicidad aguda para *Daphnia*
- Degradación biótica-test screening de la OCDE
- Degradación biótica-ensayo AFNOR NF T 90/302
- Degradación biótica-ensayo Sturm modificado
- Degradación biótica-ensayo en frasco cerrado
- Degradación biótica-ensayo MITI modificado

# Identificación del peligro

## Exposición a sustancias tóxicas

1. Ruta
2. Duración
3. Frecuencia

## Otros factores que pueden influenciar los resultados

1. Dieta
2. Estilos de vida
3. Ocupación

**La identificación del peligro de una sustancia se refiere a disponer de información científica confiable y actualizada acerca su potencial tóxico**

# Evaluación la exposición

- La exposición significa contacto a un agente químico presente en el ambiente con los límites exteriores del organismo
- Evaluación de la exposición
  - Identifica la población perjudicada
  - Calcula la cantidad, frecuencia, duración de tiempo, y la ruta de exposición



# Evaluación la exposición

- Proceso de cálculo de la dosis externa del contaminante recibida por la población
- Elementos a considerar:
  - Fuentes de contaminación
  - Dinámica de la sustancia en el ambiente
  - Concentraciones ambientales
  - Ruta ambiental de exposición
  - Poblaciones expuestas y grupos de alto riesgo
  - Patrones de actividad de población
  - Determinación de magnitud, frecuencia y duración de la exposición

## ☀ Fuentes de contaminación

- Fijas: industrias, instalaciones mineras, generadoras de energía
- Móviles: vehículos motorizados
- Migratorias intraurbanas: actividades de construcción, remediación y reparación urbana)
- Naturales: depósito natural de un mineral metálico



## ☀ Dinámica de la sustancia en el ambiente

- Fenómenos locales de transporte, transferencia, transformaciones y destino de los contaminantes, una vez liberados hacia el ambiente
- Mecanismos de transporte ambiental (volatilización, percolación, bioacumulación), factores propios de las sustancias (estado físico, solubilidad, presión de vapor, biodegradabilidad) y los del ambiente (temperatura, radiación UV, pH, cantidad de oxígeno)
- Una misma sustancia puede sufrir diferentes procesos de transporte, transformación y destino según las características del ambiente

## ☀ Concentraciones ambientales

- Programar un monitoreo ambiental representativo para conocer concentraciones promedio y tendencias en las distribuciones temporales y espaciales del tóxico

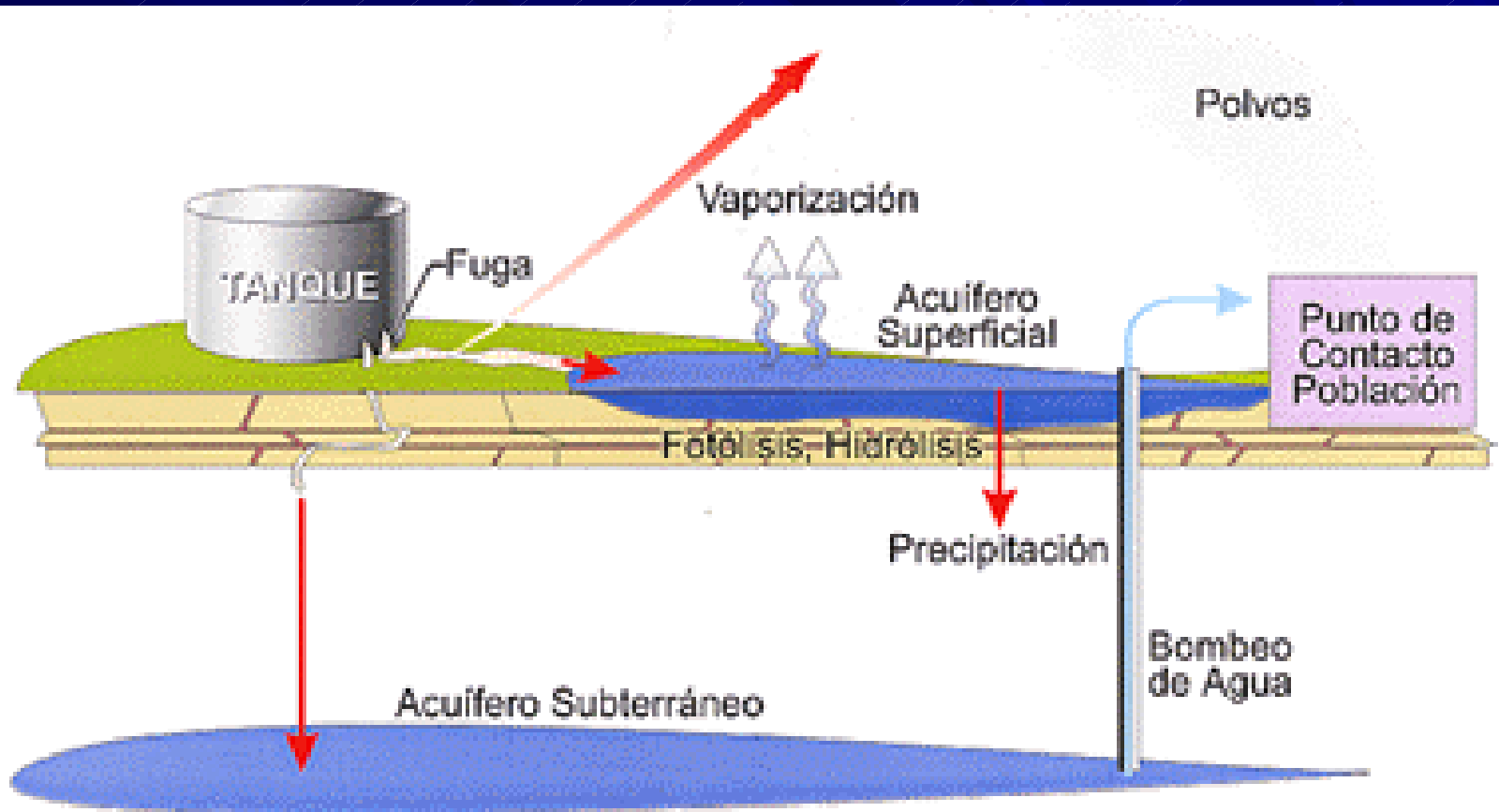


## ☀ Ruta ambiental de exposición

- Trayecto que sigue el contaminante en el ambiente desde que es liberado por la fuente emisora hasta que establece contacto con los individuos de la comunidad
- Agua de abastecimiento, alimentos, aire inspirado



Sanidad Ambiental



## ESCENARIO DE EXPOSICIÓN

## ☀ Poblaciones expuestas y grupos de alto riesgo

- Conocer quiénes y cuántos son los individuos potencialmente afectados
- Describir:
  - ubicación física
  - relación con las fuentes
  - perfil demográfico
  - actividades desarrolladas
  - estado nutricional promedio
  - estado salud-enfermedad respecto al estado de integridad funcional de los órganos y sistemas considerados como blanco primario de los contaminantes identificados



## ☀ Patrones de actividad de población

- Explorar los principales hábitos y factores de contacto que el promedio de la población tienen con el medio contaminado
- Obtener un perfil cuantitativo respecto a los tiempos y frecuencias que los individuos pasan en ciertos ambientes de interés

Ambiente	Horas (7 d x 24 h = 168 h)	Porcentaje
Laboral	45	27
Hogar	84	50
Viajes	12	7
Otros interiores	16	9,5
Aire libre	11	6,5

Distribución promedio del tiempo semanal de un habitante urbano

## ☀ Determinación de magnitud, frecuencia y duración de la exposición

**La evaluación de la exposición es un proceso**

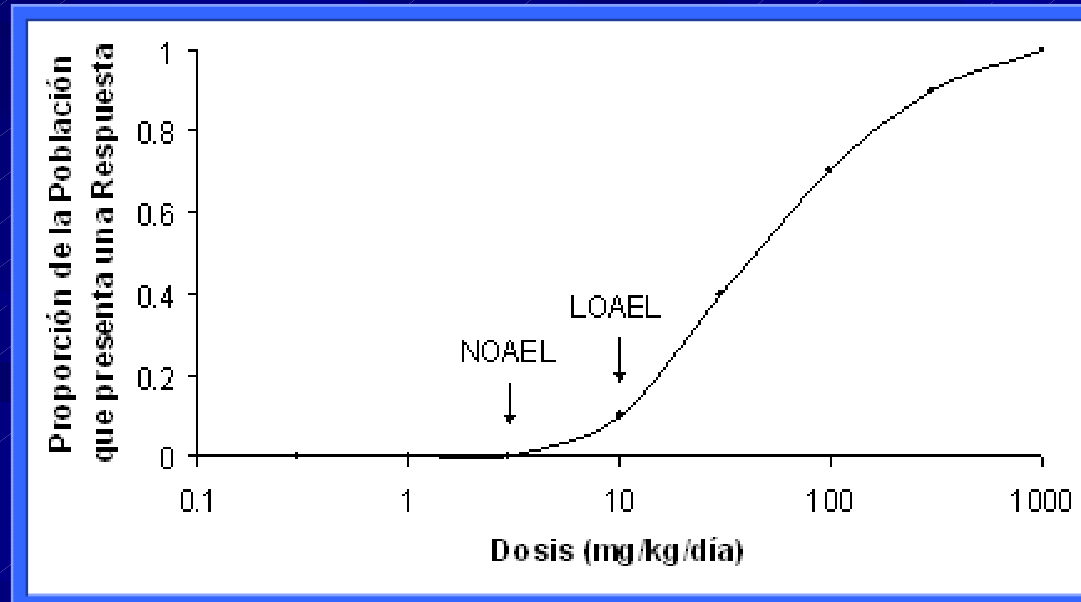
# Evaluación de la relación dosis-respuesta

- Objetivo: describir la relación cuantitativa entre la cantidad de exposición a un agente y la extensión de una respuesta adversa
- Predecir la concentración de la sustancia por debajo de la cual no es de esperar efectos adversos
- Permite conocer los niveles de concentración de las sustancias en el ambiente que pueden ser peligrosos y establecer los niveles seguros de exposición
- Estudios en animales y epidemiológicos



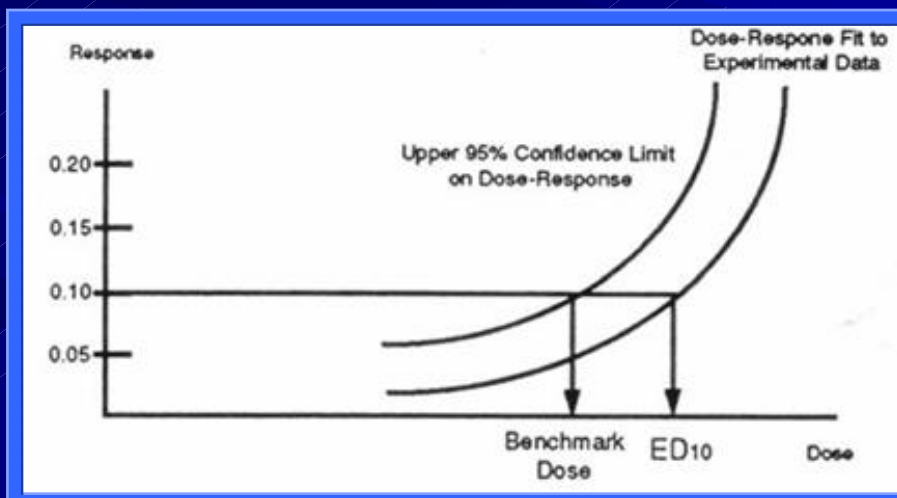
# Evaluación de la relación dosis-respuesta

- Sustancias con umbral:
  - LOAEL (lowest observed adverse effect level)
  - NOAEL (no observed adverse effect level)
  - Dosis de referencia (DRf)/ ingesta diaria admisible (IDA)



# Evaluación de la relación dosis-respuesta

- Sustancias sin umbral: (carcinogénicos)
  - Toxicidad a cualquier dosis
  - Modelos matemáticos y toxicocinéticos
  - Unidad de dosis o factor de potencia carcinogénica (FPC)
  - Unidad de riesgo (UR)



La evaluación de la curva dosis-respuesta se refiere a identificar una dosis (o en su defecto, una concentración) que recibida a diario no represente a largo plazo un riesgo para la salud humana (en caso de sustancias con umbral), o bien, que represente un nivel definido de riesgo de cáncer que sea aceptado por la comunidad (en caso de sustancias carcinogénicas sin umbral)

# Caracterización del Riesgo

- ✿ Aunar toda la información recabada para determinar, cualitativa o cuantitativamente, el riesgo real de exposición a una sustancia tóxica específica
- ✿ ¿Cuál es la posibilidad que se produzca un efecto adverso en la salud en las condiciones locales de contaminación diagnosticadas?
- ✿ Sustancias con umbral: índice de peligro (IP) y margen de exposición (ME)

**La caracterización del riesgo es el proceso para conocer la magnitud de un riesgo atribuible a condiciones específicas de contaminación ambiental.**

# Gestión del Riesgo

- Proceso de identificación, evaluación, selección e implementación de acciones para reducir el riesgo para la Salud
- El riesgo se puede evitar:
  - prohibiendo el producto
  - limitando su uso
  - estableciendo recomendaciones de uso y límites de seguridad
- Toma de decisiones sobre la mejor manera de abordar la contaminación y la exposición en el medio ambiente
- Evaluación social, legal, económica y de elaboración de políticas

# Comunicación del Riesgo

- Interpretación y difusión de la evaluación y de las decisiones tomadas en relación con el riesgo de forma que sean comprensibles por el público
- Actividades: etiquetas de advertencia, desarrollo de bases de datos de libre acceso, escuchar al público

# Monotorización del Riesgo

- La establecen las autoridades una vez tomadas las decisiones → asegurar el cumplimiento
- Actuación de Sanidad Ambiental
- Aplicación de programas de inspección sobre aguas de abastecimiento, alimentos, aguas recreativas, etc

# Lagunas actuales en el procedimiento de evaluación del Riesgo

- 🧪 Limitaciones científicas: efectos de las mezclas de compuestos, cuantificación de la incertidumbre, variabilidad interindividual
- 🧪 Desarrollo de procedimientos para cuantificar la incertidumbre, y nuevos sistemas de agregación del riesgo (sinergias y antagonismos)
- 🧪 Limitaciones políticas: legislación, presupuesto, implicaciones éticas y aceptabilidad de los riesgos.
- 🧪 Mejora de la calidad de los datos y que estos estén disponibles y sean accesibles ➡ mejorar la información y los conocimientos sobre la Salud



# Lagunas actuales en el procedimiento de evaluación del Riesgo

- 📌 Estrategia global: limitar la exposición de las sustancias químicas durante toda la vida, incluyendo límites a distintas edades y de distinta fuente
- 📌 Buena preparación de los gestores en la evaluación del riesgo
- 📌 Los medios de comunicación deberían presentar la información de forma clara y veraz

# Armonización en la Evaluación del Riesgo

¿Porqué la necesidad de una regulación internacionalmente aceptada?

🇪🇺 Para garantizar:

↪ la seguridad y la confianza del ciudadano

↪ la libre circulación de mercancías

🇪🇺 Unión Europea: Libro Blanco *Estrategia para la Futura Política en Materia de Sustancias y Preparados Químicos CCE 2001*



**Normativa REACH (2007)**

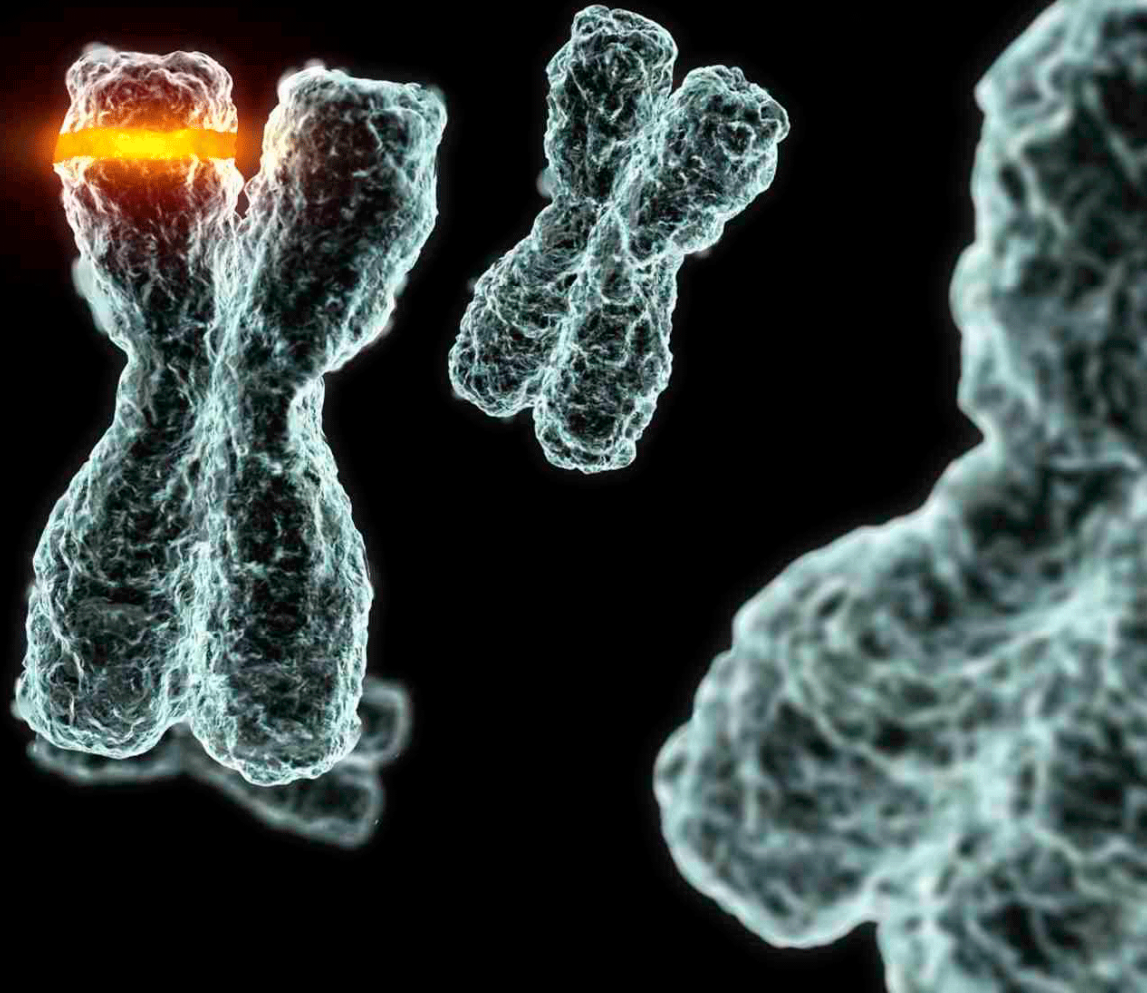
# Valoración de la MUTAGENICIDAD

**Óscar Herrero Felipe**

Universidad Autónoma de Madrid

Centro de Ciencias Medioambientales (CSIC)

oscar.herrero@gmail.com



# Genotoxicología

Disciplina de la investigación toxicológica cuyo objetivo principal es salvaguardar lo máximo posible la reserva genética humana de la acción de las distintas sustancias genotóxicas, incluyéndose en esta categoría todas aquellas que tengan efectos mutagénicos, carcinogénicos y/o tóxicos para la reproducción. (Modificado de Vamparys y col., 1996)

# Mutagénesis

Inducción de cambios hereditarios (mutaciones) en el genotipo de una célula como consecuencia de alteraciones o pérdida de genes o cromosomas (o parte de ellos). (Vettorazzi, 2001)



# Genotoxicología

	<b>MUTAGÉNESIS</b>	<b>CARCINOGÉNESIS</b>	<b>TOXICIDAD PARA REPRODUCCIÓN</b>
<b>Tiempo entre inducción y diagnóstico</b>	Desde la siguiente generación hasta varias después, quizás nunca	Desde varios meses hasta muchos años	Desde varias semanas hasta meses, rara vez años
<b>Reversibilidad</b>	Irreversible	Irreversible excepto en ciertos casos por cirugía o terapia	Irreversible excepto en ciertos casos por cirugía o terapia (desórdenes metabólicos)
<b>Sensibilidad</b>	Sin diferencia aparente entre tejidos maduros e inmaduros	Algunos tipos de cáncer afectan fundamentalmente a jóvenes, otros a la inversa	Son sensibles los tejidos inmaduros, disminuyendo la sensibilidad con el desarrollo
<b>Caracterización</b>	Cambios en la cantidad o calidad del material genético (nivel molecular)	Proliferación descontrolada (nivel celular)	Cambios en el patrón de desarrollo (nivel de tejidos y órganos)
<b>Diana</b>	Aleatoria	Normalmente hay dianas específicas	A menudo con un alto grado de especificidad entre la naturaleza del tóxico y el tipo de malformación

(Modificado de Wilson, 1972)



# Mutagénesis

- Las alteraciones pueden afectar a un solo gen, a un conjunto de genes o a un cromosoma entero.
- En un solo gen, los efectos pueden producirse a consecuencia de los efectos sobre las bases simples de ADN (mutaciones puntuales) o de grandes cambios en el gen (incluso pérdidas).
- Los efectos en cromosomas enteros pueden implicar cambios estructurales o numéricos.
- Si la mutación se produce en células germinales de organismos con reproducción sexual, puede transmitirse a la descendencia.
- Un mutágeno es un agente que provoca un aumento de mutaciones.



# Clasificación UE ( de las sustancias mutagénicas según sus efectos específicos sobre la salud humana )

## Primera Categoría

Sustancias que, se sabe, son mutagénicas para el hombre.

Se dispone de elementos suficientes para establecer la existencia de una relación de causa-efecto entre la exposición del hombre a tales sustancias y la aparición de alteraciones genéticas hereditarias.

## Segunda Categoría

Sustancias que pueden considerarse como mutagénicas para el hombre.

Se dispone de suficientes elementos para suponer que la exposición del hombre a tales sustancias puede producir alteraciones genéticas hereditarias. Dicha presunción se fundamenta generalmente en:

- . estudios apropiados en animales,
- . otro tipo de información pertinente.

## Tercera Categoría

Sustancias cuyos posibles efectos mutagénicos en el hombre son preocupantes.

Los resultados obtenidos en estudios de mutagénesis apropiados son insuficientes para clasificar dichas sustancias en la segunda categoría.



# Clasificación UE

( de las sustancias mutagénicas según sus efectos específicos sobre la salud humana )

Primera Categoría

Segunda Categoría

**TÓXICO**

**FRASE R46:**

Puede causar alteraciones genéticas hereditarias.



Tercera Categoría

**NOCIVO**

**FRASE R68:**

Posibilidad de efectos irreversibles.





# Clasificación UE ( de las sustancias mutagénicas según sus efectos específicos sobre la salud humana )

Cabe señalar que las sustancias se clasifican como mutágenas con referencia específica a las malformaciones genéticas heredadas. No obstante, se considera que, por regla general, los resultados que implican la clasificación de los productos químicos en la tercera categoría («inducción de cambios con incidencia genética en células somáticas») constituyen una advertencia de la posible existencia de carcinogénesis.

La elaboración de métodos de ensayo sobre mutagenicidad es un proceso continuo. En muchos de los nuevos ensayos se emplean protocolos y criterios de evaluación no normalizados. A la hora de evaluar los datos sobre mutagenicidad han de tenerse en cuenta la calidad de los ensayos y el grado de validación del método de ensayo.



# SGA



## Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (ONU, 2005)

### PROPÓSITOS

- Mejorar la protección de la salud humana y del medio ambiente al facilitar un sistema de comunicación de peligros inteligible internacionalmente.
- Proporcionar un marco reconocido a los países que carecen de sistema.
- Reducir la necesidad de efectuar ensayos y evaluaciones de los productos químicos.
- Facilitar el comercio internacional de los productos químicos cuyos peligros se hayan evaluado e identificado debidamente a nivel internacional.
- Crear criterios armonizados para clasificar sustancias y mezclas con arreglo a sus peligros ambientales, físicos y para la salud.
- Crear elementos armonizados de comunicación de peligros, con requisitos sobre etiquetas y fichas de datos de seguridad.



# Clasificación SGA ( para los mutágenos de las células germinales )

## Categoría 1A

Productos químicos de los que se sabe que inducen mutaciones hereditarias en las células germinales de seres humanos.

## Categoría 1B

Productos químicos que se consideran como si indujeran mutaciones hereditarias en las células germinales de los seres humanos.

## Categoría 2

Productos químicos que son motivo de preocupación por la posibilidad de que puedan inducir mutaciones hereditarias en las células germinales de los seres humanos.



# Clasificación SGA ( para los mutágenos de las células germinales )

## Categoría 1A

Productos químicos de los que se sabe que inducen mutaciones hereditarias en las células germinales de seres humanos.

Criterios:

Datos positivos procedentes de estudios epidemiológicos en humanos.



# Clasificación SGA ( para los mutágenos de las células germinales )

## Categoría 1B

Productos químicos que se consideran como si indujeran mutaciones hereditarias en las células germinales de los seres humanos.

### Criterios:

Resultado(s) positivo(s) de ensayos *in vivo* de mutaciones hereditarias en células germinales de mamíferos; o

Resultado(s) positivo(s) de ensayos *in vivo* de mutaciones en células somáticas en mamíferos, junto con algún indicio que haga suponer que la sustancia puede provocar mutaciones en células germinales. Esta información complementaria puede, por ejemplo, proceder de ensayos *in vivo* que demuestran bien la capacidad mutágena/genotóxica de la sustancia para las células germinales, o bien que la sustancia o su(s) metabolito(s) son capaces de interactuar con el material genético de células germinales; o

Resultados positivos de ensayos que muestran efectos mutagénicos en células germinales de seres humanos, sin que esté demostrada la transmisión a los descendientes; por ejemplo, un incremento de la frecuencia de aneuploidía en los espermatozoides de los varones expuestos.



# Clasificación SGA ( para los mutágenos de las células germinales )

## Categoría 2

Productos químicos que son motivo de preocupación por la posibilidad de que puedan inducir mutaciones hereditarias en las células germinales de los seres humanos.

### Criterios:

Resultados positivos de experimentos llevados a cabo con mamíferos y/o en algunos casos de experimentos *in vitro*, obtenidos a partir de:

- Ensayos *in vivo* de mutaciones en células somáticas de mamíferos; o
- Otros ensayos *in vivo* para efectos genotóxicos en células somáticas de mamíferos siempre que estén corroborados por resultados positivos de ensayos de mutagenicidad *in vitro*.

### NOTA:

*Los productos químicos que resultan positivos en los ensayos in vitro de mutagenicidad en mamíferos, y que también muestran una analogía en cuanto a la relación actividad-estructura con mutágenos conocidos de células germinales deberían clasificarse como mutágenos de la Categoría 2.*



# Clasificación SGA ( para los mutágenos de las células germinales )

Categoría 1A

Categoría 1B

## PELIGRO

Puede provocar defectos genéticos (indíquese la vía de exposición si se ha demostrado concluyentemente que ninguna otra vía es peligrosa).



Categoría 2

## ATENCIÓN

Susceptible de provocar defectos genéticos (indíquese la vía de exposición si se ha demostrado concluyentemente que ninguna otra vía es peligrosa).



# Clasificación SGA ( para los mutágenos de las células germinales )

Esta clase de peligro se refiere fundamentalmente a los productos químicos capaces de inducir mutaciones en las células germinales humanas transmisibles a los descendientes. No obstante, para clasificar sustancias y mezclas en esta clase de peligro, también pueden considerarse los ensayos de mutagenicidad/genotoxicidad *in vitro* y los realizados con las células somáticas de mamíferos *in vivo*.

La clasificación de las sustancias para efectos hereditarios en células germinales humanas se hace sobre la base de ensayos bien hechos y suficientemente validados, considerándose de preferencia los que siguen las Directrices de la OCDE.





# Criterios UE vs SGA

## UE CATEGORÍA 1 CATEGORÍA 2 CATEGORÍA 3

<b>Criterios</b>	Datos positivos de estudios epidemiológicos en humanos	Datos positivos de ensayos con animales que demuestren la existencia de: 1. Mutaciones germinales hereditarias. 2. Interacción con el ADN de células germinales. 3. Mutaciones somáticas si, también, se demuestra que la sustancia o un metabolito es capaz de alcanzar las células germinales.	Datos positivos de ensayos con animales que demuestren la existencia de: 1. Mutaciones somáticas. 2. Interacción con el ADN de células somáticas.
------------------	--	---	---

## SGA CATEGORÍA 1A CATEGORÍA 1B CATEGORÍA 2

<b>Criterios</b>	Datos positivos de estudios epidemiológicos en humanos	Datos positivos de ensayos con animales que demuestren la existencia de: 1. Mutaciones germinales hereditarias. 2. Mutaciones somáticas si, también, se demuestra la capacidad mutagénica/genotóxica de la sustancia para células germinales o la capacidad de la sustancia o un metabolito de interactuar con el ADN de las células germinales. <div style="border: 1px solid yellow; padding: 5px;">Datos positivos en humanos que demuestren la existencia de efectos mutagénicos en células germinales no transmisibles a los descendientes.</div>	Datos positivos de ensayos con animales que demuestren la existencia de: 1. Mutaciones somáticas. 2. Efectos genotóxicos en células somáticas si existen datos positivos de ensayos de mutagenicidad <i>in vitro</i> . <div style="border: 1px solid yellow; padding: 5px;">Datos positivos de ensayos <i>in vitro</i> y analogía en cuanto a la relación estructura-actividad con mutágenos conocidos de células germinales.</div>
------------------	--	---	--



# Ensayos



## Ensayos *in vivo* de mutaciones hereditarias en células germinales:

Ensayo de mutación letal dominante en roedores (OCDE 478).

Ensayo de traslocación hereditaria en ratones (OCDE 485).

Ensayo de mutación local específica en ratones.

## Ensayos *in vivo* de mutaciones en células somáticas:

Ensayo de aberraciones cromosómicas en médula ósea de mamíferos (OCDE 475).

Ensayo de la mancha en ratones (OCDE 484).

Ensayo de micronúcleos de eritrocitos en mamíferos (OCDE 474).



# Ensayos



## Ensayos de mutagenicidad / genotoxicidad en células germinales:

### Mutagenicidad:

Ensayo de aberraciones cromosómicas en espermatogonios de mamíferos (OCDE 483).  
Ensayo de micronúcleos en espermátidas.

### Genotoxicidad:

Análisis de intercambio de cromátidas hermanas en espermatogonias.  
Ensayo de síntesis no programada de ADN en células testiculares.

## Ensayos de genotoxicidad en células somáticas:

Ensayo *in vivo* de síntesis no programada de ADN en hígados de mamífero (OCDE 486).  
Intercambio de cromátidas hermanas de médula ósea de mamífero.



# Ensayos

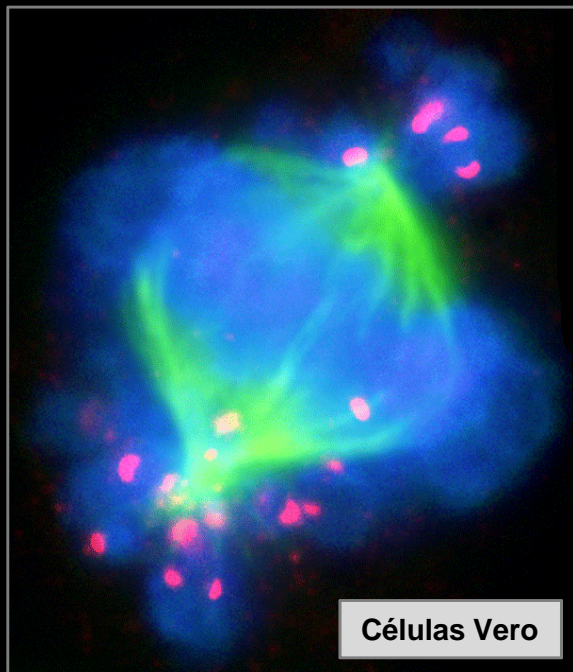


## Ensayos *in vitro* de mutagenicidad:

Ensayo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en mamífero (OCDE 473).

Ensayo *in vitro* de mutación génica en células de mamífero (OCDE 476).

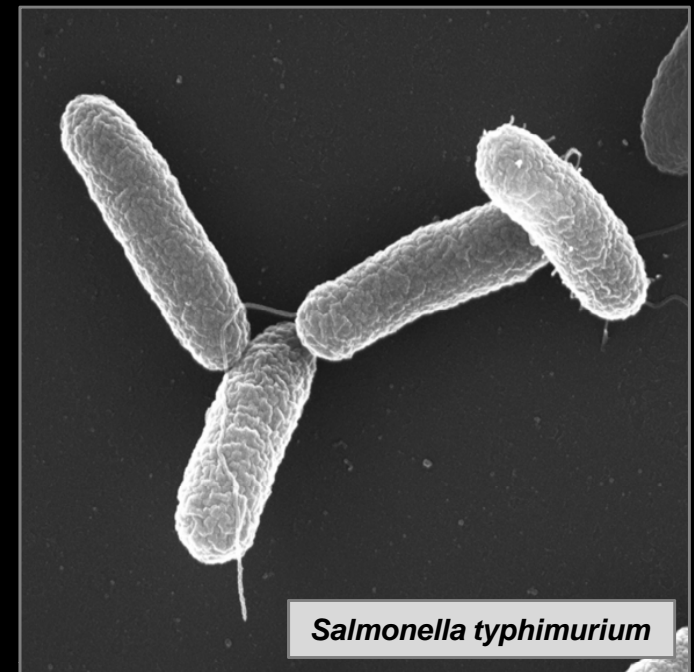
Ensayo de retromutación en bacterias (OCDE 471).



Células Vero



Vicia faba

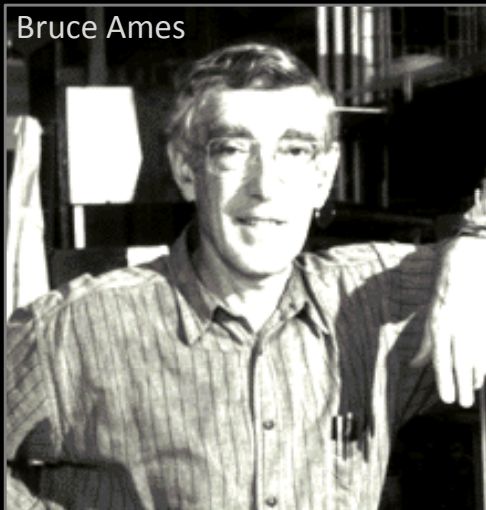


Salmonella typhimurium



# OCDE 471

Ensayo de retromutación en bacterias  
(*Salmonella typhimurium*)



## Test de Ames (1973)

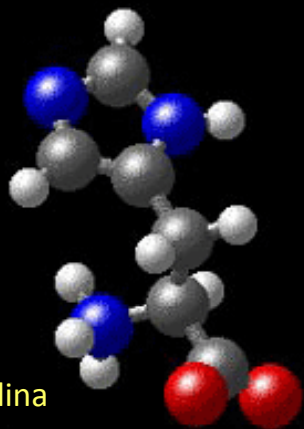
Primer ensayo de corta duración desarrollado para detectar la mutagenicidad de los agentes químicos.

Gracias a este ensayo, en 1975 se demostró que el 60-90 % de las sustancias químicas carcinogénicas eran a su vez mutagénicas.

## Principio:

Utiliza cepas mutantes, deficientes para la histidina, para detectar mutaciones puntuales (sustitución, adición o supresión) de una o unas pocas pares de bases del ADN.

Detecta mutaciones que revierten las mutaciones originales de las cepas y restauran la capacidad de las bacterias de sintetizar el aminoácido esencial histidina.



Histidina



# OCDE 471

Ensayo de retromutación en bacterias  
(*Salmonella typhimurium*)

CEPA	MUTACIÓN	SISTEMA DE REPARACIÓN	LPS	REQUIERE BIOTINA	PLÁSMIDOS
TA98	<u>hisD3052</u>	uvrB	rfa 1004	bio-	pKM101
TA100	<u>hisG46</u>	uvrB	rfa 1001	bio-	pKM101
TA102	<u>hisG8476</u> <u>hisG428</u>	Intacto	rfa 1027	bio-	pKM101 pAQ1

hisD3052

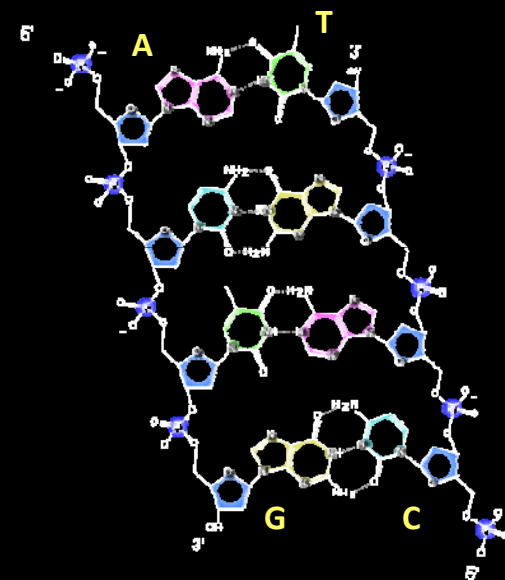
Mutación de tipo *frameshift* que detecta inserciones o supresiones de pares de bases G-C.

hisG46

Mutación puntual que detecta sustituciones de pares de bases G-C.

hisG428

Mutación puntual en el plásmido pAQ1 que detecta sustituciones de pares de bases A-T.



# OCDE 471

Ensayo de retromutación en bacterias  
(*Salmonella typhimurium*)

CEPA	MUTACIÓN	SISTEMA DE REPARACIÓN	LPS	REQUIERE BIOTINA	PLÁSMIDOS
TA98	hisD3052	uvrB	rfa 1004	bio-	pKM101
TA100	hisG46	uvrB	rfa 1001	bio-	pKM101
TA102	hisG428	Intacto	rfa 1027	bio-	pKM101 pAQ1

## uvrB

Supresión de un gen que codifica para el sistema de reparación por escisión del ADN, característico en daños por luz ultravioleta. Produce un aumento de la sensibilidad en la detección de mutágenos.

Incluye al gen que codifica para la síntesis de biotina.



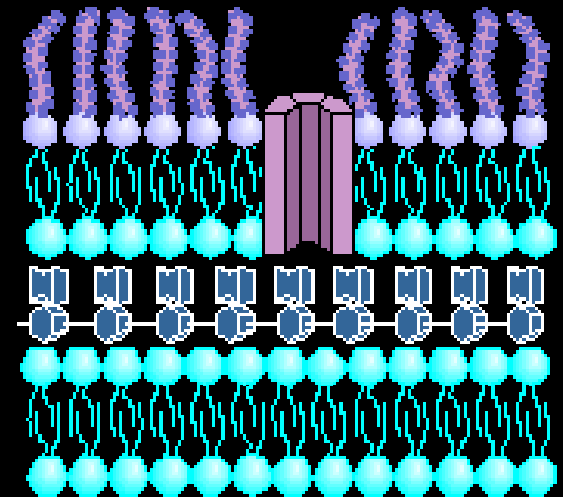
# OCDE 471

Ensayo de retromutación en bacterias  
(*Salmonella typhimurium*)

CEPA	MUTACIÓN	SISTEMA DE REPARACIÓN	LPS	REQUIERE BIOTINA	PLÁSMIDOS
TA98	hisD3052	uvrB	rfa 1004	bio-	pKM101
TA100	hisG46	uvrB	rfa 1001	bio-	pKM101
TA102	hisG428	Intacto	rfa 1027	bio-	pKM101 pAQ1

rfa

Mutación que causa la pérdida parcial de la barrera lipopolisacárida de la pared bacteriana, aumentando la permeabilidad a grandes moléculas.  
Aumenta la sensibilidad al cristal violeta.





# OCDE 471

Ensayo de retromutación en bacterias  
(*Salmonella typhimurium*)

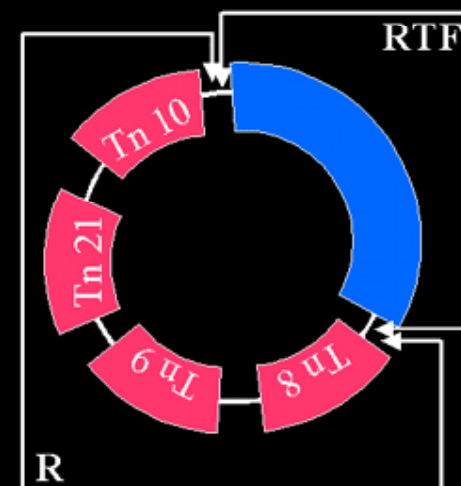
CEPA	MUTACIÓN	SISTEMA DE REPARACIÓN	LPS	REQUIERE BIOTINA	PLÁSMIDOS
TA98	hisD3052	uvrB	rfa 1004	bio-	<u>pKM101</u>
TA100	hisG46	uvrB	rfa 1001	bio-	<u>pKM101</u>
TA102	hisG428	Intacto	rfa 1027	bio-	<u>pKM101</u> <u>pAQ1</u>

## pKM101

Confiere resistencia a ampicilina y aumenta la mutagénesis espontánea e inducida porque incrementa el sistema de reparación con error.

## pAQ1

Confiere resistencia a tetraciclina.



# OCDE 471

## Ensayo de retromutación en bacterias (*Salmonella typhimurium*)

Para su conservación, las cepas se mantienen en criotubos a  $-80^{\circ}\text{C}$  y disueltas en DMSO. Se controla de forma rutinaria que mantengan sus características.

Los cultivos se crecen en medio líquido a  $37^{\circ}\text{C}$ , en oscuridad y con agitación, hasta que las bacterias alcanzan la fase exponencial de crecimiento (aprox.  $10^9$  células/ml).

Se siembran las bacterias en triplicados de placas Petri con agar mínimo, que incluye trazas de histidina y biotina, para el análisis de los controles negativos y positivo y de cada concentración de la sustancia de estudio, todo ello con y sin activación metabólica.

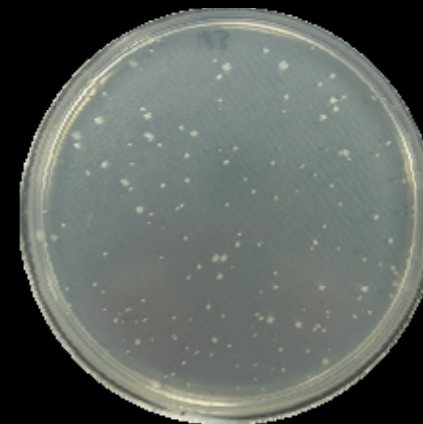
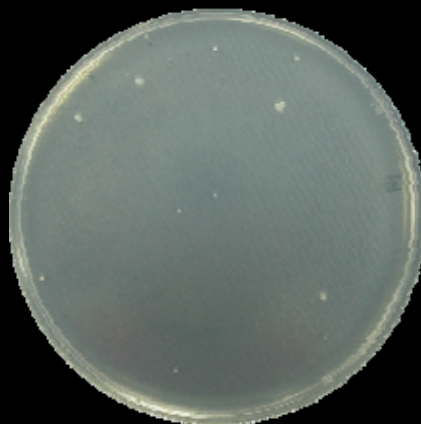


# OCDE 471

Ensayo de retromutación en bacterias  
(*Salmonella typhimurium*)

Controles Negativos / Control Positivo

CEPA	Nº REVERTIENES ESPONTÁNEOS	MUTÁGENO ESTÁNDAR	Nº REVERTIENTES CON MUTÁGENO
TA98	15-75	4-NQO	300-500
TA100	60-220	MMS	2730
TA102	240-320	MMS	6585



# OCDE 471

Ensayo de retromutación en bacterias  
(*Salmonella typhimurium*)

## Activación Metabólica

El sistema más usado consta de una fracción postmitocondrial (S9) obtenida a partir de hígados de roedores tratados con inductores enzimáticos como Aroclor 1254 o fenobarbital.

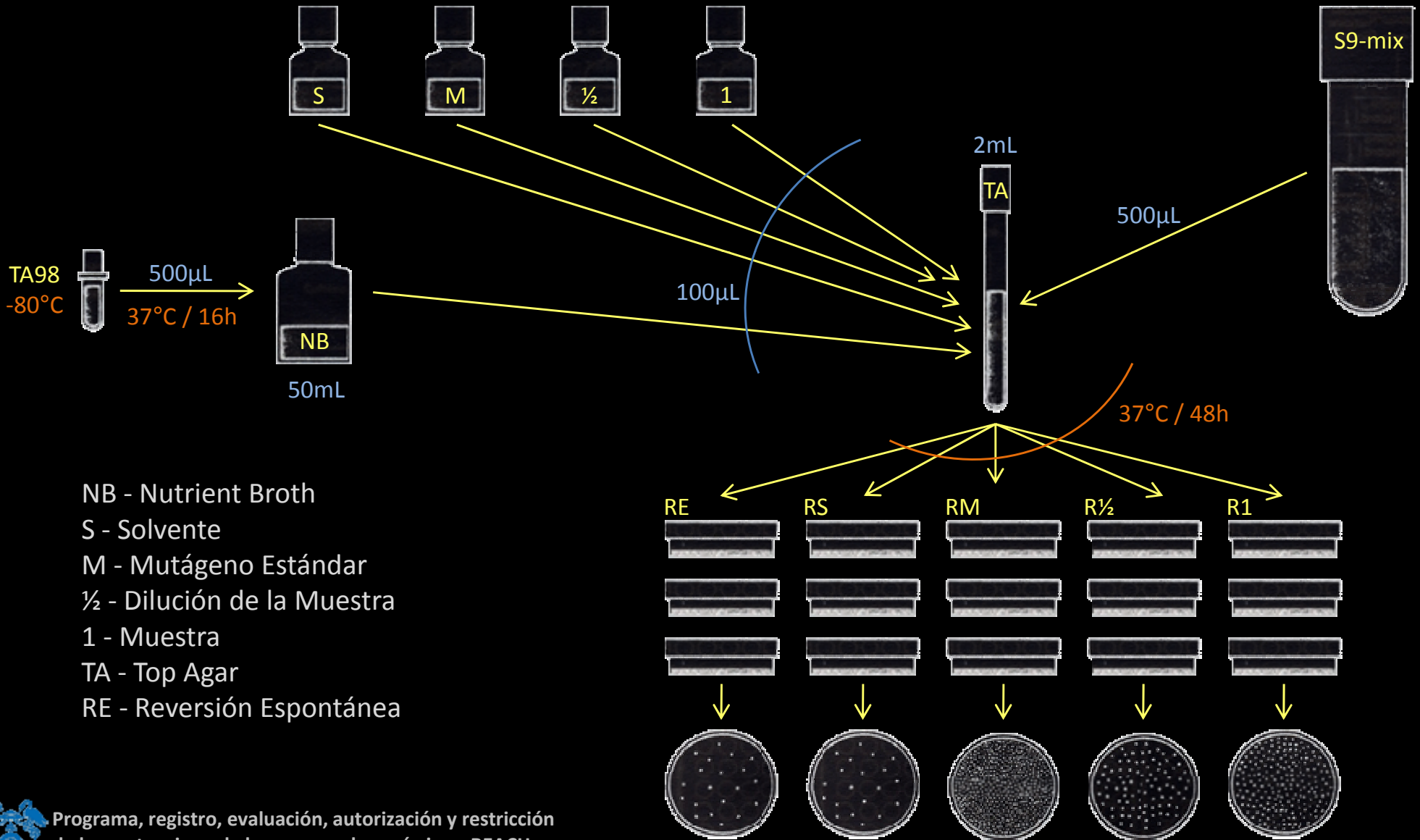
A esta fracción se le añaden los cofactores NADP Y G6P para obtener la S9-mix.

La concentración de S9 en la S9-mix varía entre el 5% y el 30%. Puede ser apropiado utilizar más de una.



# OCDE 471

## Ensayo de retromutación en bacterias (*Salmonella typhimurium*)



- NB - Nutrient Broth
- S - Solvente
- M - Mutágeno Estándar
- 1/2 - Dilución de la Muestra
- 1 - Muestra
- TA - Top Agar
- RE - Reversión Espontánea

# OCDE 471

## Ensayo de retromutación en bacterias (*Salmonella typhimurium*)

- El empleo de una activación metabólica exógena en sistemas procariotas no emula con exactitud las condiciones *in vivo* de mamíferos, por lo que este ensayo no proporciona información directa de la potencia mutagénica y/o carcinogénica de una sustancia en humanos.
- Una extensa base de datos demuestra que muchas sustancias positivas para este ensayo tienen también actividad mutagénica en otros. En otras ocasiones, encontramos agentes mutagénicos que no son detectados por este método. Cuidado con la sobreestimación de la actividad mutagénica a causa de los factores que aumentan la sensibilidad de las bacterias a las sustancias de análisis.
- Aunque muchas sustancias que son positivas para este ensayo son carcinógenos en mamíferos, la correlación no es absoluta. Existen carcinógenos no detectados por este ensayo a causa de que sus mecanismos de acción no son genotóxicos o no se encuentran presentes en bacterias.



# OCDE 473

## Ensayo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en mamífero

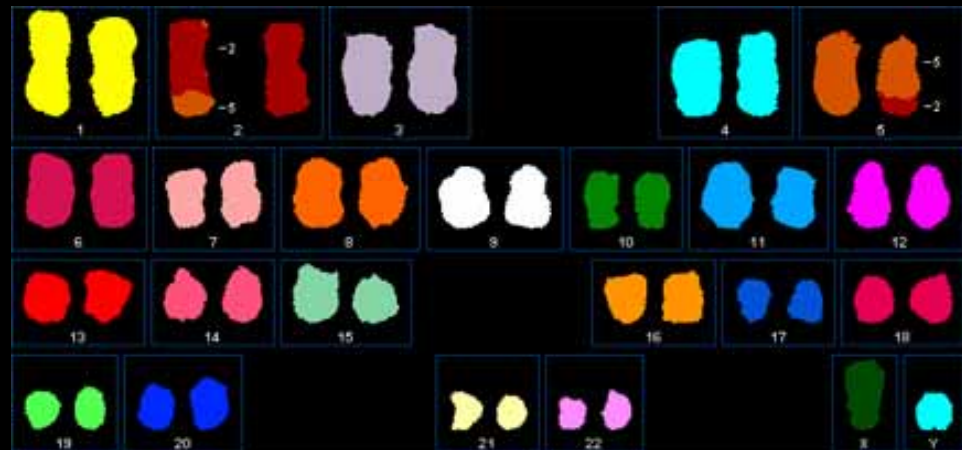
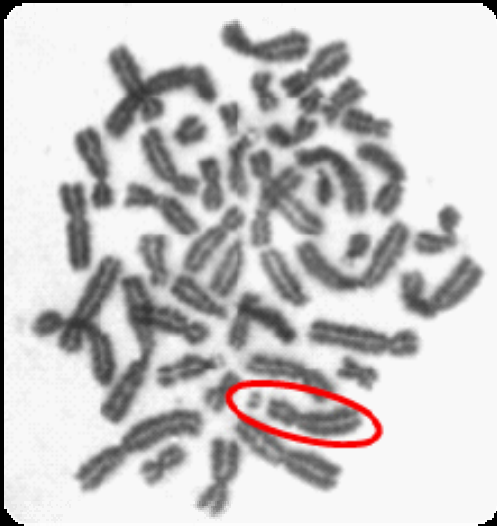
- El propósito de este ensayo es identificar agentes que causan aberraciones cromosómicas estructurales en células de mamífero en cultivo.
- Las mutaciones cromosómicas son causa de muchas enfermedades genéticas en humanos y existen evidencias de que mutaciones cromosómicas que causan alteraciones en oncogenes y en genes supresores de tumores de células somáticas están involucradas en la inducción de cáncer en humanos y animales de experimentación.
- Este ensayo emplea cultivos de líneas celulares establecidas o cultivos primarios. Las células usadas se seleccionan en base a su capacidad de crecimiento en cultivo, la estabilidad de su cariotipo, su número cromosómico, su diversidad cromosómica y la frecuencia con la que sufren aberraciones cromosómicas espontáneas.



# OCDE 473

## Ensayo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en mamífero

- Los cultivos son expuestos a la sustancia a analizar, tanto en presencia como en ausencia de activación metabólica, y las células en división son analizadas microscópicamente.





# OCDE 476

Ensayo *in vitro* de mutación génica  
en células de mamífero

- El propósito de este ensayo es identificar agentes que causan mutaciones génicas.
- Entre las líneas celulares empleadas se encuentran:
  - Células de linfoma de ratón L5178Y
  - Células de hámster chino (CHO, AS52, V79)
  - Células linfoblastoides humanas TK6
- Los parámetros genéticos más usados miden mutaciones en los genes de la timidina kinasa (TK), hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa (HGPRT) y un transgen de xantina-guanina fosforribosil transferasa (XGPRT).
- Las células usadas se seleccionan en base a su capacidad de crecimiento en cultivo y su estabilidad en la frecuencia de mutaciones espontáneas.
- Generalmente se requiere el uso de una activación metabólica exógena.



# OCDE 476

Ensayo *in vitro* de mutación génica  
en células de mamífero

- Este ensayo se emplea para detectar posibles mutágenos y carcinógenos en humanos, aunque la correlación entre el mismo y la carcinogenicidad no es perfecta.
- Células deficientes en TK son resistentes a los efectos citotóxicos de la trifluorotimidina (TFT). Células con TK sin mutar son sensibles a TFT, que causa la inhibición del metabolismo celular y la parada en el ciclo de división. De forma similar, células deficientes en HGPRT o XGPRT son seleccionadas por su resistencia a 6-tioguanina (TG) u 8-azaguanina (AG).
- Tras una incubación apropiada con la sustancia a analizar, se calcula la frecuencia de mutación a partir del número de colonias mutantes en un medio selectivo y el número de colonias en un medio no selectivo.



# OXDE

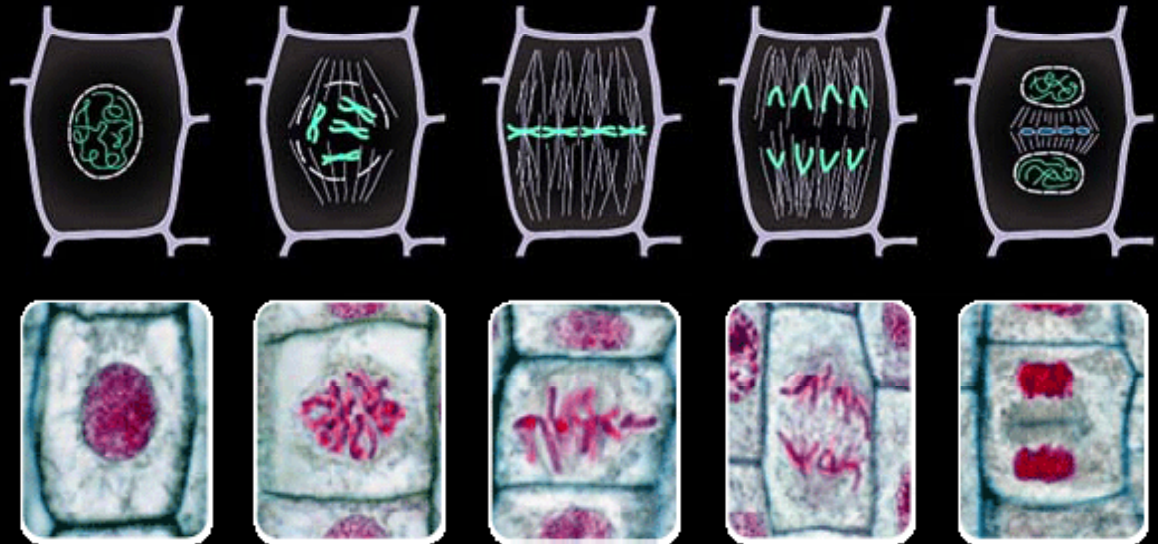
## Ensayo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en *Allium cepa*

Fiskesjö G (1985) The Allium Test as Standard in Environmental Monitoring. *Hereditas* 102:99-12

- Pelar, decapar y lavar los bulbos.



- Excitar el meristemo radicular mediante una muesca.

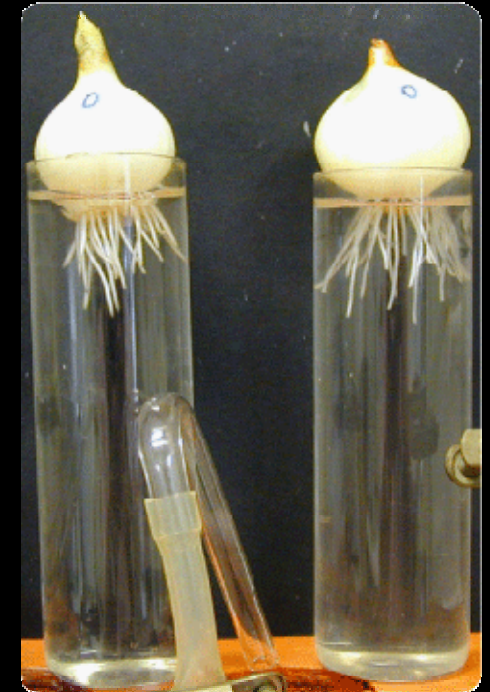


# O~~OX~~E

## Ensayo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en *Allium cepa*

Fiskesjö G (1985) The Allium Test as Standard in Environmental Monitoring. *Hereditas* 102:99-12

- Cultivar los bulbos en oscuridad a  $25 \pm 0.5$  °C.
- Oxigenar el agua (burbujeo constante de 10-20 ml/min).
- Controlar crecimiento radicular tras 24-48 horas (2 cm).

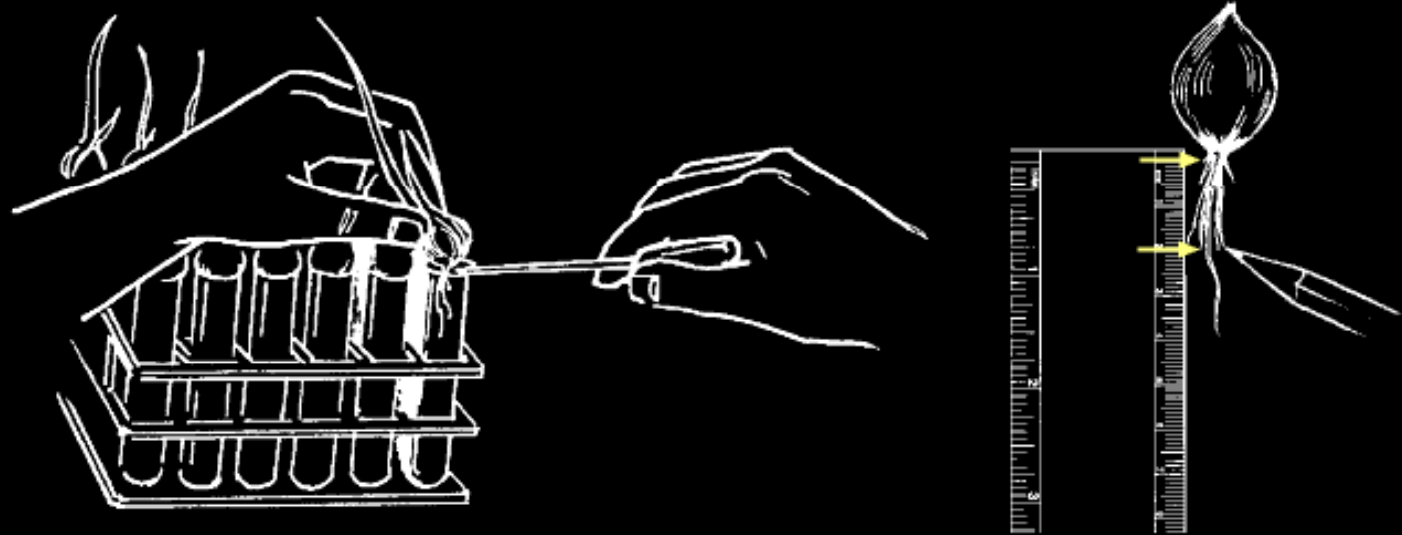
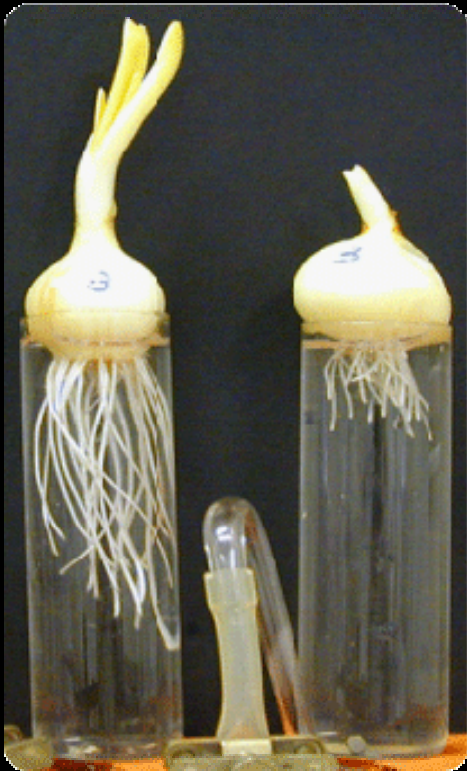


# OXDE

## Ensayo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en *Allium cepa*

Fiskesjö G (1985) The Allium Test as Standard in Environmental Monitoring. *Hereditas* 102:99-12

- Iniciar el tratamiento de las cebollas.



- Calcular Índice Mitótico e Índice de Fases a las 48 horas.
- Calcular la Inhibición del Crecimiento Radicular a las 72 horas.



~~OOOE~~

## Ensayo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en *Allium cepa*

Fiskesjö G (1985) The Allium Test as Standard in Environmental Monitoring. *Hereditas* 102:99-12



Roturas: efecto clastogénico

Micronúcleos: efecto clastogénico y/o aneuploidía

Puentes con cromosomas rezagados: riesgo de aneuploidía



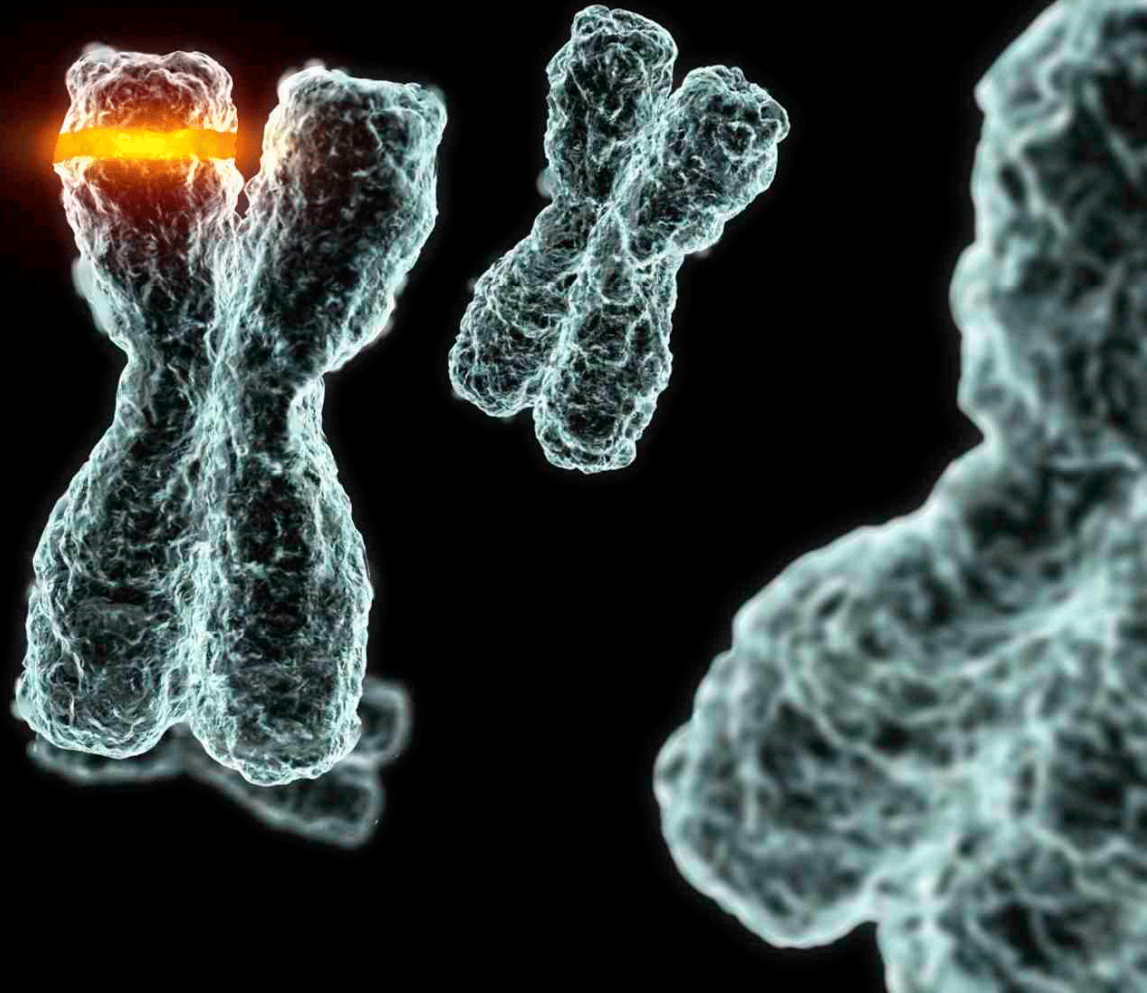
# Valoración de la MUTAGENICIDAD

**Óscar Herrero Felipe**

Universidad Autónoma de Madrid

Centro de Ciencias Medioambientales (CSIC)

oscar.herrero@gmail.com



# Ensayos *in vitro*

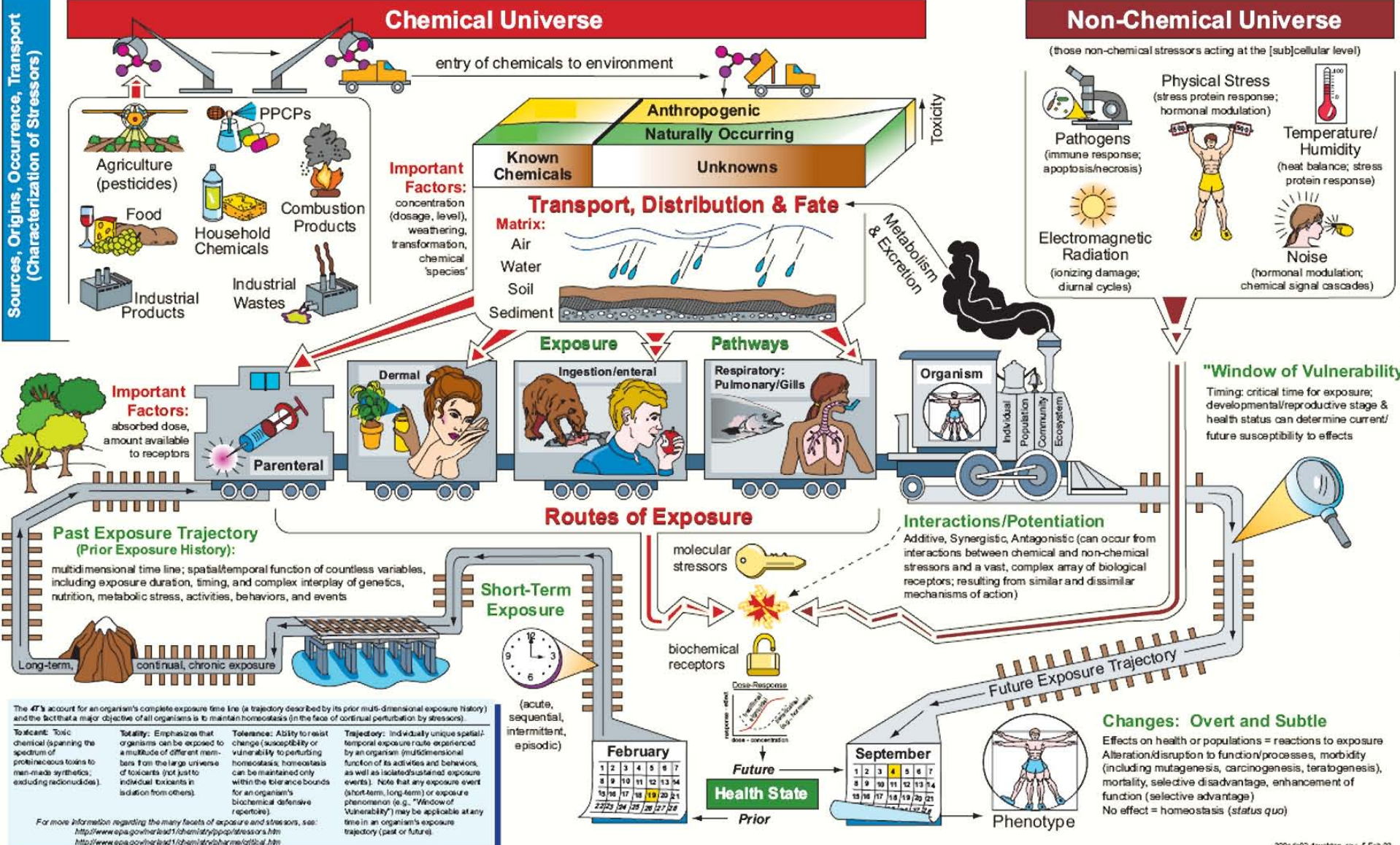


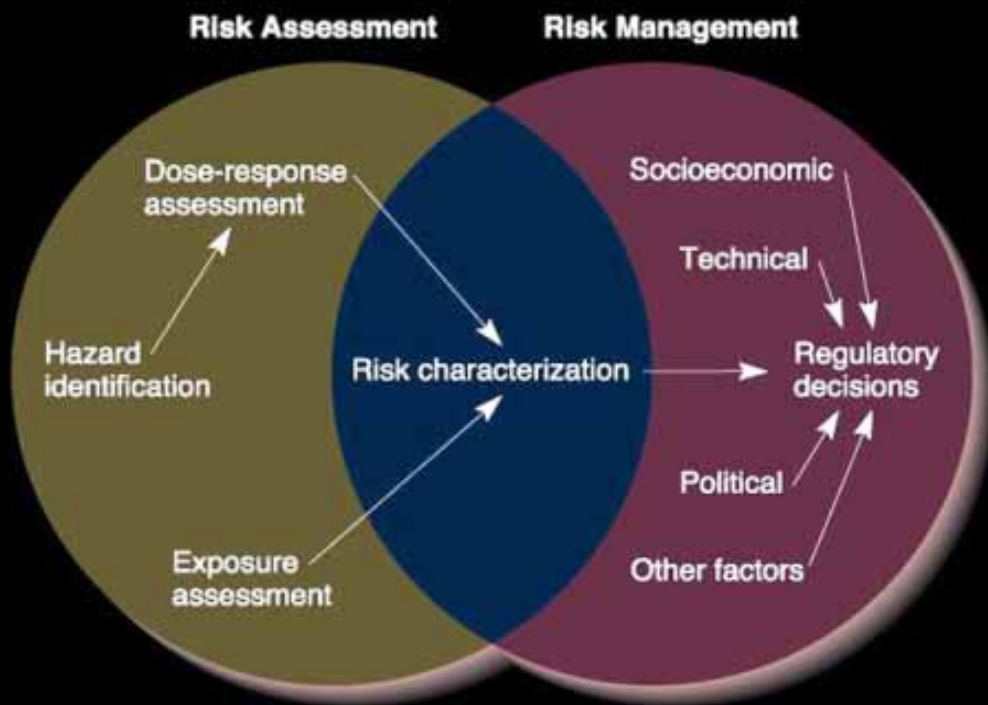




# Biological Systems and Stressors

## "Toxicant Totality Tolerance Trajectory" - 4T's





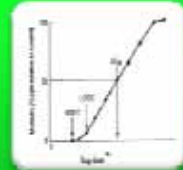
La evaluación y control del riesgo de productos químicos son procedimientos integrados.

✓ La caracterización del riesgo se define como la estimación cuantitativa y/o cualitativa de los efectos nocivos asociados a los agentes químicos.



### Identificación del riesgo

- Capacidad inherente del compuesto para producir efectos nocivos.



### Evaluación de toxicidad

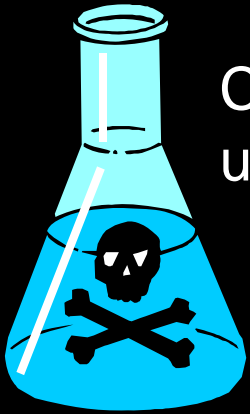
- Efecto del compuesto en función de la concentración.



### Valoración de la exposición

- Probabilidad de interacción con el compuesto.

# Identificación del riesgo



Confirmación de que un agente químico es capaz de causar un efecto adverso bajo determinadas circunstancias.

¿ Cúales son los productos químicos presentes ?



E Explosivo



O Comburente



F<sup>+</sup> Extremadamente  
Inflamable  
F Fácilmente  
Inflamable



N Peligroso  
para el medio  
ambiente



T<sup>+</sup> Muy Tóxico

T Tóxico



Xn Nocivo

Xi Irritante



C Corrosivo



Recogida y análisis de datos sobre peligrosidad y toxicidad

Información acerca de las posibles vías de transporte

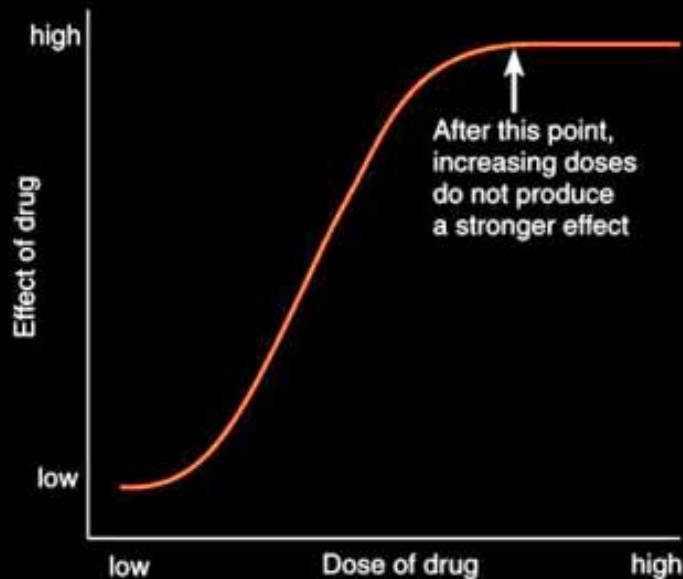
# Evaluación de toxicidad

Metodologías diversas cuyos resultados deben ser integrados para permitir la extrapolación a condiciones humanas.

Definir la toxicidad del compuesto

Definir los niveles de exposición

► Dose-Response Curve

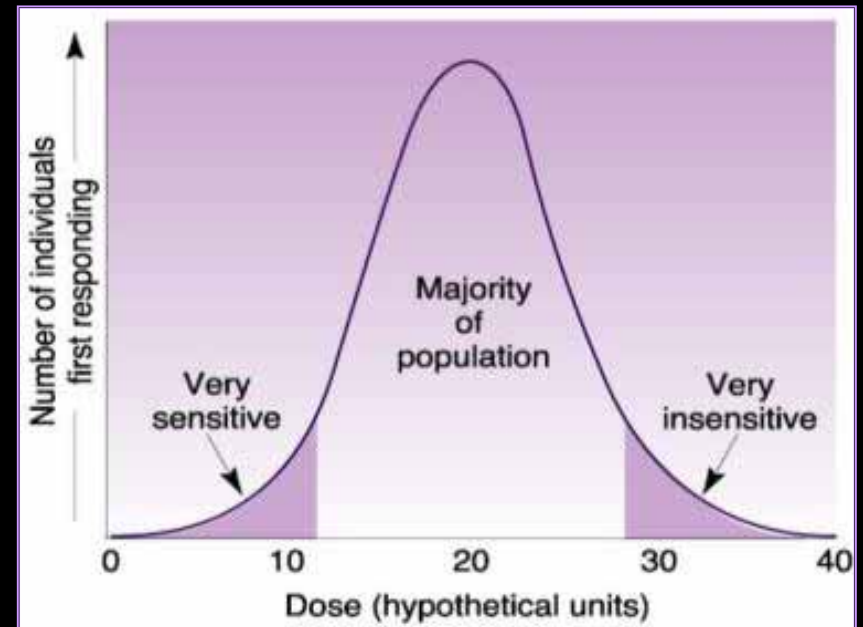


**NOEC**

**LOEC**

**EC50**

# Valoración de la exposición

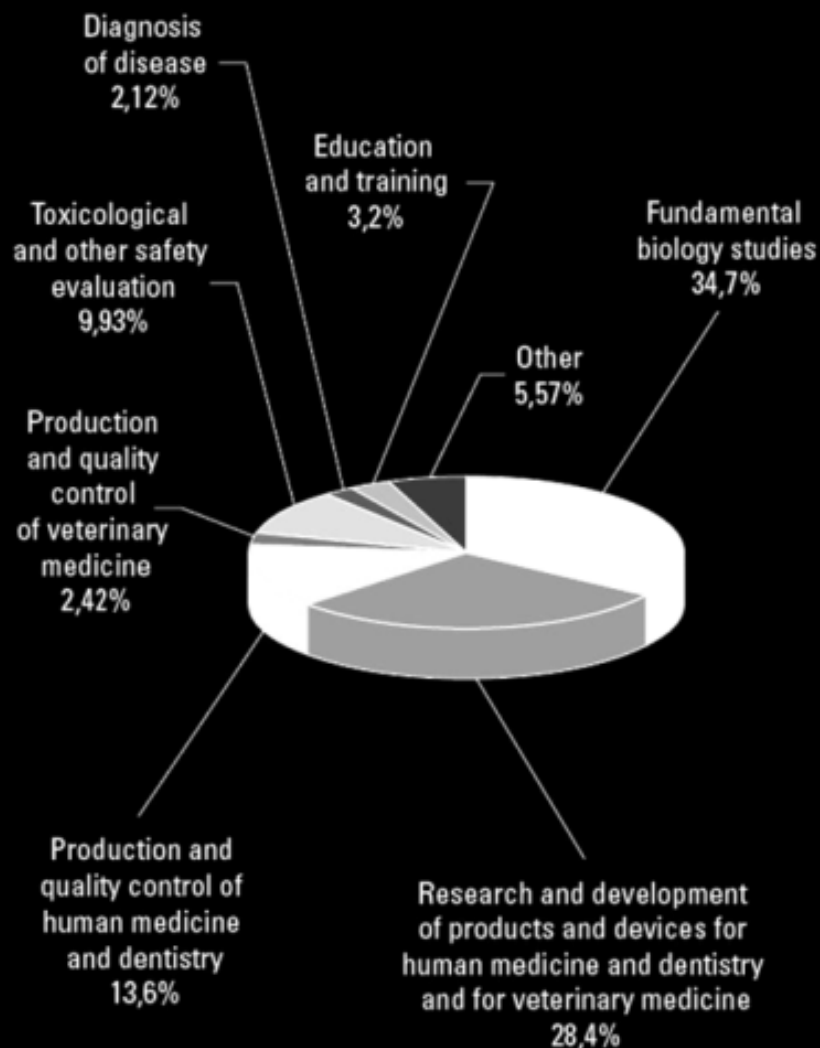
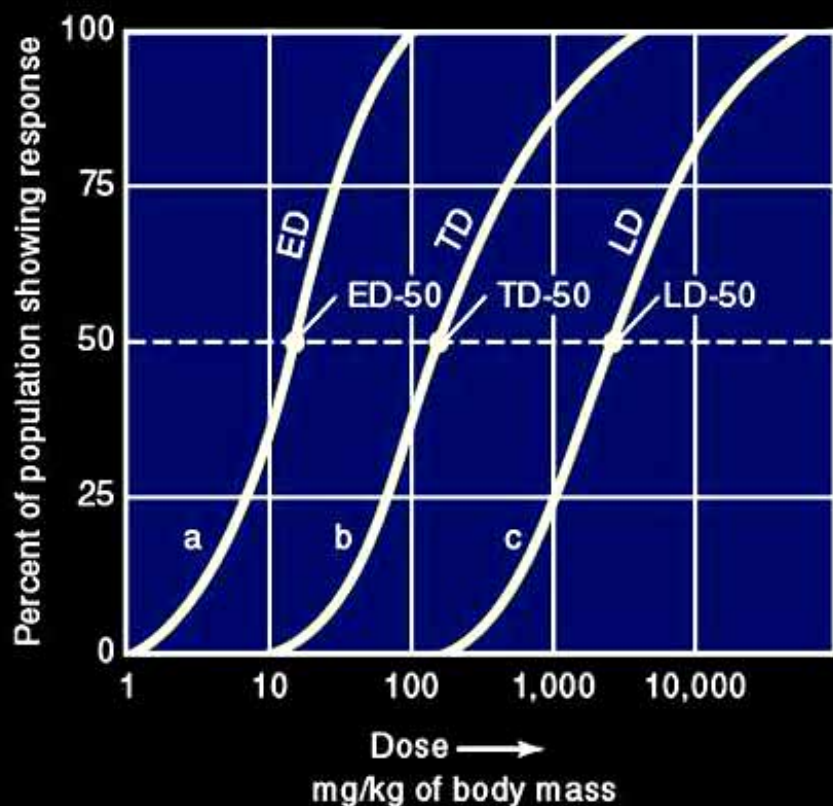


Factores de riesgo



Vías de exposición  
Concentración del compuesto  
Duración de la exposición  
Poblaciones expuestas

# Evaluación toxicológica



En el año 2005 se utilizaron en Europa 12.1 millones de vertebrados para experimentación.

# Evaluación toxicológica



Toxicidad aguda y crónica



Toxicidad para la reproducción



Toxicidad para el desarrollo



Ensayos de irritación ocular



Ensayos de hipersensibilidad



Ensayos de genotoxicidad



Ensayos de carcinogenicidad



Ensayos de fototoxicidad



Estudios toxicocinéticos



Estudios de comportamiento

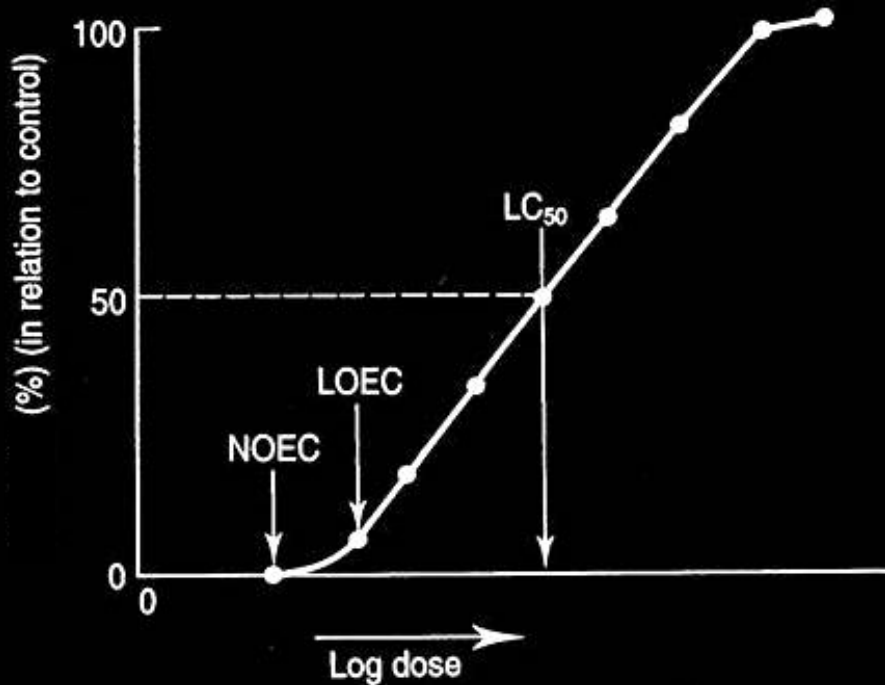
# Evaluación toxicológica

Toxicological endpoints	Type of animal test
Eye irritancy	Animal Adult albino rabbit (3 animals)
	Test Dose effect monitored (21 days). Irritancy is scored according to a standard.
Skin irritancy and corrosion	OECD No 405: Acute eye irritation/Corrosion (updated 24 April 2002)
	Animal Adult albino rabbit (3 animals)
	Test Dose applied on a shaved area of the skin. Irritancy is scored by checking against control patch of skin.
Skin allergy	OECD No 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion (updated 24 April 2002) No 434: Acute Dermal Toxicity – Fixed Dose Procedure (updating guideline 404)
	Animal Albino guinea pigs (17-30 per chemical)
Acute toxicity	Test Dose substance is delivered to the skin by surface application or injection. Multiple doses applied in order to cause any local reaction
	OECD No 406: Skin Sensitisation (updated 27 July 1995)
	Animal Usually rats (15-30 per chemical).
Repeat dose toxicity	Test Oral dosing of animals and observation for 14 days. All animals are autopsied at the end of the test period. Sex-specific responses are noted.
	OECD No 401: Acute Oral Toxicity (deleted 20 December 2002) No 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Method (adopted 20 December 2001) No 423: Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method (adopted 20 December 2001) No 425: Acute Oral Toxicity: Up and Down Procedure (updated 23 March 2006)
	Animal Usually rats (40-80 rats per chemical). Sometimes dogs are also used (32 dogs per chemical). Animal repeatedly dosed with a chemical for 28-90 days. Dose administered orally, dermally or inhaled.
Endocrine disruptors	Test Animals are then killed and their tissues examined pathologically and biochemically
	OECD No 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents (updated 27 July 1995) No 408: Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents (updated 21 September 1998) No 409: Repeated Dose 90 day Oral Toxicity Study in Non-Rodents (updated 21 September 1998) No 412: Repeated Dose Inhalation Toxicity (original 12 <sup>th</sup> May 1981).

Carcinogenicity	Animal Very young rats or mice (at least 400)
	Test Doses are administered either orally, dermally or inhalation. Outcome of exposure is assessed by blood sampling, pathological appearance and tissue and organ examination to detect cancerous changes. Tests costs \$2 million per chemical and take 5 years to complete.
Chronic toxicity	OECD No 451: Carcinogenicity Studies (original 12 <sup>th</sup> May 1981)
	Animal Rats (400) or dogs as second species (32).
Teratogenicity	Test Oral and inhalation routes of administration. Length of study from 12 months to 2 years.
	OECD No 452: Chronic Toxicity Studies (original 12 <sup>th</sup> May 1981)
Mutagenicity	Animal Pregnant rats (80) or rabbits (48)
	Test Doses delivered by mouth and the embryos killed and examined for gross or more subtle changes.
Reproductive toxicity	OECD No 421: Reproduction/ Developmental Toxicity Screening Test (original 27 <sup>th</sup> July 1995).
	Animal Rats, mice or Chinese hamsters (minimum 40)
Toxicokinetics	Test Single or multiple orally/injected doses are administered into the body cavity. Two control groups are used (one receives no chemical and another receives a chemical known to cause an effect on genes). Tissue sampling is performed up to 48 hrs after dosing.
	OECD No 478: Genetic Toxicology: Rodent Dominant Lethal Test (Updated guideline 4 <sup>th</sup> April 1984).
Endocrine disruptors	Animal Rats (100 females (80 pregnant) and 40 males)
	Test Doses administered during reproductive cycle. Assessment is made on fertility, pregnancy. Tissue, brain or secondary sexual systems are studied for effects.
Endocrine disruptors	OECD No 421: Reproduction/ Developmental Toxicity Screening Test (original 27 <sup>th</sup> July 1995).
	Animal Rodents and sometimes dogs (8 of each species).
Endocrine disruptors	Test Doses are administered (oral, inhalation, via the skin). Animals are then killed and examined for accumulation of test substance in presumed target organs. Excretion and metabolism time courses are also followed.
	OECD No 417: Toxicokinetics (updated 4 <sup>th</sup> April 1984)
Endocrine disruptors	Currently no validated methods specific to endocrine disruptors. Both <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> are being developed.



# Evaluación toxicológica



**LD<sub>50</sub>** : estimated dose that causes 50% mortality of tested organisms

**LC<sub>50</sub>** : estimated concentration that causes 50% mortality of tested organisms

**EC<sub>50</sub>** : estimated concentration that causes an effect (reduced reproduction, growth, etc) on 50% of tested organisms

**IC<sub>50</sub>** : estimated inhibitory concentration that reduces the normal response by 50%

**NOEC** : No Observed Effect Concentration

**LOEC** : Low Observed Effect Concentration

**Others** involving different percent change (10%, 20%, etc)



# Evaluación toxicológica

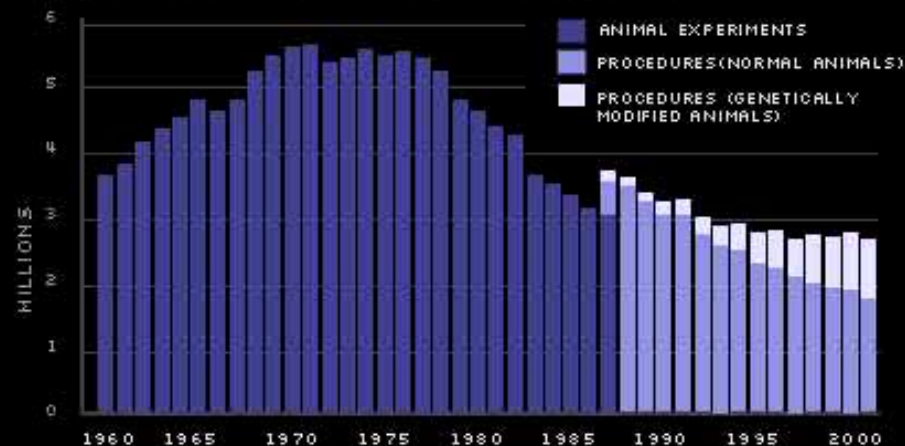
El uso de animales de experimentación permite la caracterización del riesgo químico y es un paso imprescindible para cumplir con los requisitos legales.

## Inconvenientes

Diferencias interespecíficas  
Diferencias de exposición  
Diferencias de dosis



The number of animal experiments per year



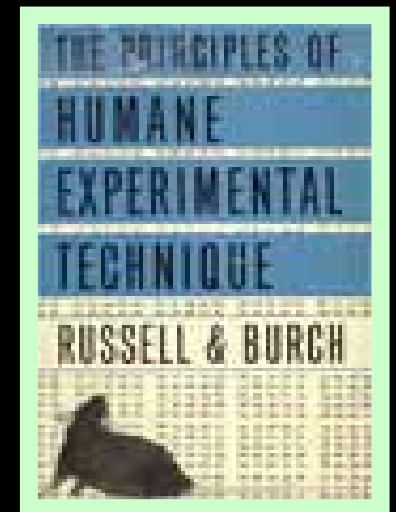
# Evaluación toxicológica



**Directiva del Consejo 86-609/EEC** de 24 de Noviembre de 1986 relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

## Métodos alternativos (1959)

- R** efinamiento de los métodos de experimentación animal.
- R** edución en el número de animales empleados.
- R** eemplazo de las técnicas por otras que no utilicen animales.



# Métodos alternativos



■ Refinement



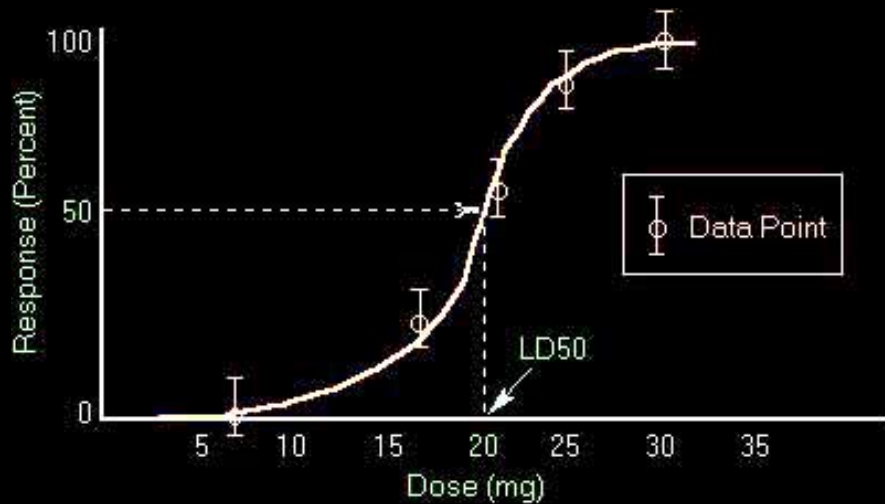
■ Reduction



■ Replacement

# Métodos alternativos

OECD abolished the requirement for the oral test (LD50) in 2002 (Test Guideline 401).



The dose of chemical calculated to be lethal to 50% of the organisms in a specific test situation.

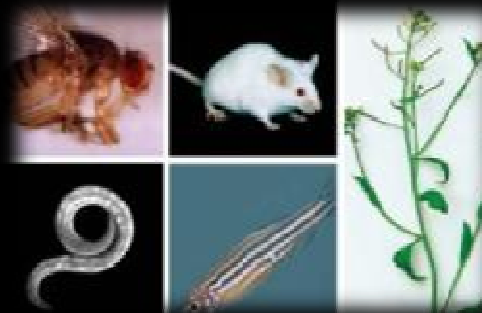
It is expressed in weight of the chemical (mg) per unit of body weight (kg) of the test organism.



■ Refinement



■ Reduction



■ Replacement

# Normativa REACH



**Registro**  
**Evaluación**  
**Autorización**  
**Restricción**

**Table 2** Toxicological standard data requirements under REACH (waiving conditions not cited)

Toxicological endpoint	Production volume
8.1 Skin irritation, skin corrosion	≥ 1 t/a
8.2 Eye irritation	≥ 1 t/a
8.3 Dermal sensitisation	≥ 1 t/a
8.4 Mutagenicity	≥ 1 t/a
8.5.1 Acute oral toxicity	≥ 1 t/a
8.5.2 Acute inhalative toxicity	≥ 10 t/a (case by case) <sup>a</sup>
8.5.3 Acute dermal toxicity	≥ 10 t/a (case by case) <sup>a</sup>
8.6.1 Repeated dose toxicity (28 days)	≥ 10 t/a
8.6.2 Repeated dose toxicity (90 days)	≥ 100 t/a
8.7.1 Reproductive toxicity screening	≥ 10 t/a
8.7.2 Developmental toxicity	≥ 100 t/a
8.7.3 Two-generation reproductive toxicity study	≥ 100 t/a (case by case) <sup>a</sup>
8.8 Toxicokinetics	≥ 1,000 t/a
8.9.1 Carcinogenicity study	≥ 10 t/a (assessment on the basis of relevant information available)
	≥ 1,000 t/a (case by case) <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Depending on the assumed route of exposure to humans

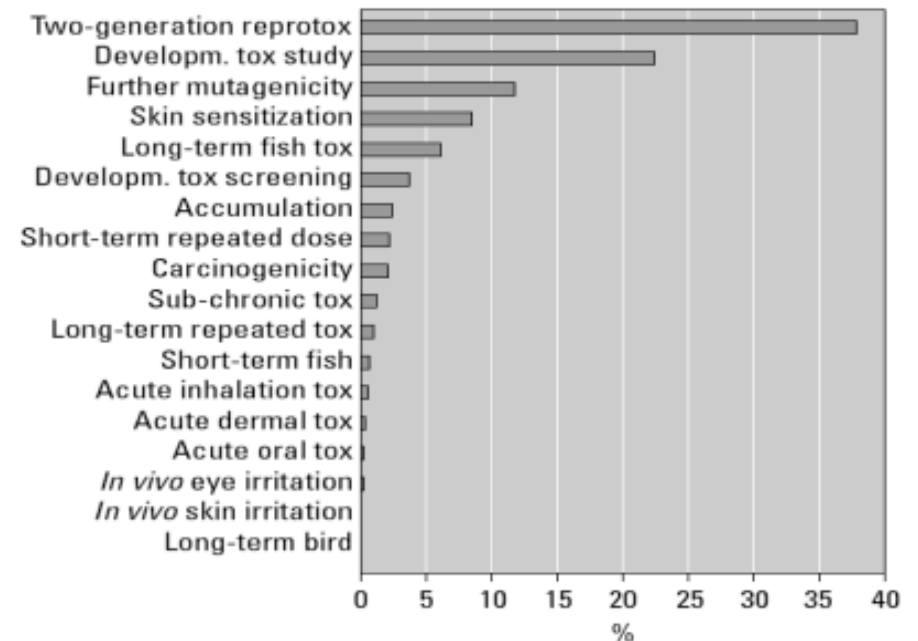
<sup>b</sup> For details see text

Article 23(1):

*In order to avoid unnecessary animal testing, testing on vertebrate animals for the purposes of this Regulation shall be undertaken only as a last resort.*

*It is also necessary to take measures limiting unnecessary duplication of other tests.*

**Test animal need for different endpoints**  
 (% of total test animals needed)



# Normativa REACH



**Registro**  
**Evaluación**  
**Autorización**  
**Restricción**



**Refinamiento**  
**Reducción**  
**Reemplazo**

## Article 12

*Before new tests are carried out to determine the properties listed in this Annex, all available in vitro data, in vivo data, historical data, data from valid Q(SAR) and data from structurally related substances (read-across approach) shall be assessed first.*

Aproximación por analogía (read-across)  
Métodos *in silico* (QSAR)  
Genómica, proteómica y metabonómica  
Organismos con menor sensibilidad  
Embriones de vertebrados  
Ensayos *in vitro*  
Voluntarios y epidemiología

# Normativa REACH



**Registro**  
**Evaluación**  
**Autorización**  
**Restricción**

## Annex V-VIII

*Before new tests are carried out to determine the properties listed in this Annex, all available in vitro data, in vivo data, historical data, data from valid Q(SAR) and data from structurally related substances (read-across approach) shall be assessed first.*



Esquema de una estrategia integrada de ensayo inteligente.  
(Modificada de Boghal y col. 2005).



# Ensayos *in vitro*



**Refinamiento**

**Reducción**

**Reemplazo**

Fracciones subcelulares  
Láminas de tejidos  
Órganos perfundidos  
Explantes  
Reagregados celulares  
Cultivos organotípicos 3D  
Cultivos primarios  
Líneas celulares

## VENTAJAS



Versatilidad del diseño experimental.  
Resultados más rápidos y fiables  
Menor coste económico.  
Automatización y/o monitorización.  
Utilización de material biológico humano.



## LIMITACIONES

Simplicidad de los resultados  
Complejidad de la interpretación  
Dificultad de extrapolación  
No sustituyen ensayos *in vivo*  
Requieren validación

# Ensayos *in vitro*



**Registro**

**Evaluación**

**Autorización**

**Restricción**

La normativa REACH requiere ensayos *in vitro* para todos los compuestos químicos (Anexo V) y además métodos alternativos y ensayos *in vivo* para sustancias que estén presentes en cantidades  $\geq 10$  Tm ( Anexos VI-X).

**Annexes V to VIII** of the REACH proposal include lists of tests which will be involved in the chemical safety testing programme.

- **Annex V** includes standard information requirements for substances manufactured or imported in quantities of 1 tonne or more. In order to meet this requirement, data will generally be collected with non-animal tests, with Annex V listing *in vitro* skin and eye irritation, *in vitro* skin corrosivity, *in vitro* mutagenicity, and non-animal ecotoxicity. There is one animal test listed, the Local Lymph Node Assay for the determination of skin sensitisation. There is also an additional test proposed for acute toxicity; the vote will determine whether this will be an animal or non-animal test.
- **Annexes VI, VII and VIII** provide additional standard information requirements for substances manufactured or imported in quantities of 10, 100, and 1,000 tonnes or more respectively. They are mainly based on animal tests and do not include all validated non-animal tests currently available.
- **Annex X** (previously Annex V of the Dangerous Substances Directive (67/548/EC), which provides a list of test methods, does not include all *in vitro* and other non-animal tests currently available; Annex X details the animal test protocols.

**Table 3** Overview of toxicological in vivo and in vitro testing methods accepted for regulatory purposes

Toxicological end point	In vivo methods (no. of OECD test guideline in brackets)	In vitro methods (no. of OECD test guideline in brackets, if applicable)
1. Acute Toxicity	Acute Toxicity Oral [401, 420 (fixed dose procedure), 423 (acute toxic class method), 425 (up-and-down procedure)] <sup>f</sup> , dermal (402, 434 <sup>a</sup> ) <sup>f</sup> or inhalation [403, 433 <sup>b</sup> (fixed concentration procedure), 436 <sup>c</sup> (acute toxic class (ATC) method)] <sup>f</sup>	
2. Dermal resorption	Skin absorption (427) <sup>f</sup>	Skin absorption (428) <sup>f</sup>
3. Phototoxicity		3T3 NRU Phototoxicity test (432) <sup>f</sup>
4. Skin irritation and corrosion	Acute dermal irritation/corrosion (404) <sup>f</sup>	Transcutaneous electrical resistance test (TER) (430) <sup>f</sup> Skin corrosion: human skin model test (431) <sup>f</sup> Membrane barrier test method for skin corrosion (435) <sup>f</sup>
5. Eye irritation and corrosion	Acute eye irritation/corrosion (405) <sup>f</sup>	Embryonated chicken egg (HET-CAM) <sup>g</sup> Isolated bovine cornea (BCOP) <sup>g</sup> Isolated chicken eye (CEET) <sup>g</sup> Isolated rabbit eye (IRE) <sup>g</sup>
6. Sensitisation	Skin Sensitisation (406) <sup>f</sup> Local lymph node assay (LLNA) (429) <sup>f</sup>	
7. Hepatotoxicity	Repeated dose toxicity study in rodents oral (28 day) (407) <sup>f</sup> , dermal (21/28-day) (410) <sup>f</sup> or inhalation (28-day or 14-day study) (412) <sup>f</sup>	
8. Nephrotoxicity		
9. Hematotoxicity	Combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (422) <sup>f</sup>	
10. Cardiotoxicity	Repeated dose 90-day toxicity study oral in rodents (408) <sup>f</sup> or non-rodents (409) <sup>f</sup> , dermal (411) <sup>f</sup> or inhalation (413) <sup>f</sup> Chronic toxicity studies (452) <sup>f</sup>	

**Table 3** Overview of toxicological *in vivo* and *in vitro* testing methods accepted for regulatory purposes

Toxicological end point	<i>In vivo</i> methods (no. of OECD test guideline in brackets)	<i>In vitro</i> methods (no. of OECD test guideline in brackets, if applicable)
11. Endocrine effects	Two-generation reproduction toxicity study (416) <sup>f</sup> Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents; updated with parameters for endocrine effects (May 2007 version) (407 <sup>d</sup> ) <sup>f</sup>	
12. Neurotoxicity	Delayed neurotoxicity of organophosphorus substances following acute exposure (418) <sup>f</sup> Delayed neurotoxicity of organophosphorus substances, 28-day repeated dose study (419) <sup>f</sup> Neurotoxicity study in rodents (424) <sup>f</sup>	
13. Immunotoxicity		
14. Prenatal development	Prenatal developmental toxicity study (414) <sup>f</sup>	Whole embryo culture (WEC) <sup>g</sup> Micromass Test (MM) <sup>g</sup> Embryonic stem cell test (EST) <sup>g</sup>
Pre- and postnatal development	Two-generation reproduction toxicity study (416) <sup>f</sup> Developmental neurotoxicity study (426) <sup>f</sup>	
15. Fertility	Combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (422) <sup>f</sup> Reproduction/developmental toxicity screening test (421) <sup>f</sup> Repeated dose 28-day toxicity study (407, 410, 412) <sup>f</sup> Repeated dose 90-day toxicity study (408, 409, 411, 413) <sup>f</sup> One-generation reproduction toxicity study (415) <sup>f</sup> Two-generation reproduction toxicity study (416) <sup>f</sup>	

**Table 3** Overview of toxicological in vivo and in vitro testing methods accepted for regulatory purposes

Toxicological end point	In vivo methods (no. of OECD test guideline in brackets)	In vitro methods (no. of OECD test guideline in brackets, if applicable)
16. Genotoxicity, mutagenicity	Mammalian erythrocyte micronucleus test (474) <sup>f</sup>	Bacterial reverse mutation test (471) <sup>f</sup>
	Mammalian bone marrow chromosomal aberration test (475) <sup>f</sup>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , gene mutation assay (480) <sup>f</sup>
	Sex-linked recessive lethal test in <i>Drosophila melanogaster</i> (477) <sup>f</sup>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , mitotic recombination assay (481) <sup>f</sup>
	Rodent dominant lethal test (478) <sup>f</sup>	Mammalian chromosome aberration test (473) <sup>f</sup>
	Mammalian spermatogonial chromosome aberration test (483) <sup>f</sup>	Mammalian cell gene mutation test (476) <sup>f</sup>
	Mouse spot test (484) <sup>f</sup>	Micronucleus test (487 <sup>e</sup> ) <sup>f</sup>
	Mouse heritable translocation assay (485) <sup>f</sup>	Sister chromatid exchange assay in mammalian cells (479) <sup>f</sup>
	Unscheduled DNA synthesis (UDS) test with mammalian liver cells (486) <sup>f</sup>	DNA damage and repair, UDS in mammalian cells (482) <sup>f</sup>
16. Carcinogenicity	Carcinogenicity studies (451) <sup>f</sup>	Cell transformation assays (SHE, Balb/c 3T3, C3H10T) <sup>g</sup>
	Combined chronic toxicity/carcinogenicity Studies (453) <sup>f</sup>	

<sup>a</sup> Draft Test Guideline 434 Acute Dermal toxicity-Fixed Dose Procedure, May 2004 Version ([http://www.oecd.org/searchResult/0,3400,en\\_2649\\_34377\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/searchResult/0,3400,en_2649_34377_1_1_1_1_1_1,00.html))

<sup>b</sup> Draft Test Guideline 433: acute inhalation toxicity—fixed concentration procedure, June 2004 Version ([http://www.oecd.org/searchResult/0,3400,en\\_2649\\_34377\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/searchResult/0,3400,en_2649_34377_1_1_1_1_1_1,00.html))

<sup>c</sup> Draft New Test Guideline 436: acute inhalation toxicity—acute toxic class (ATC) Method, December 2004 Version ([http://www.oecd.org/searchResult/0,3400,en\\_2649\\_34377\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/searchResult/0,3400,en_2649_34377_1_1_1_1_1_1,00.html))

<sup>d</sup> Draft Updated Test Guideline 407: repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents; Updated with parameters for endocrine effects, May 2007 version ([http://www.oecd.org/document/55/0,3343,en\\_2649\\_34377\\_2349687\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/55/0,3343,en_2649_34377_2349687_1_1_1_1_1_1,00.html))

<sup>e</sup> Draft Proposal for a New Guideline 487: in vitro micronucleus test, December 2006 Version ([http://www.oecd.org/document/55/0,3343,en\\_2649\\_34377\\_2349687\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/55/0,3343,en_2649_34377_2349687_1_1_1_1_1_1,00.html))

<sup>f</sup> OECD Guidelines for the testing of chemicals (<http://oberon.sourceoecd.org/vl=5003995/cl=13/nw=1/rpsv/cw/vhosts/oecdjournals/1607310x/vln4/contpl-1.htm>);

<sup>g</sup> Tests listed only in Annex V of Directive 67/548/EEC or accepted by regulatory authorities of some EU Member States



# Ensayos *in vitro*



## Annex V ( $\geq 1$ tonne)

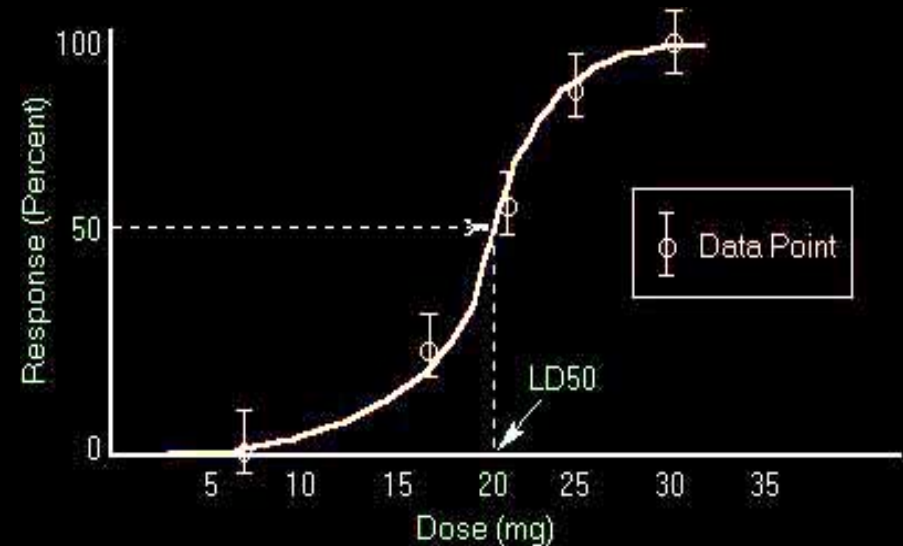
Skin irritation/corrosion (*in vitro*)

Eye irritation (*in vitro*)

Skin sensitization (LLNA)

Mutagenicity (*in vitro*)

Acute toxicity test (*in vivo* / *in vitro*)



### The principles of the three alternative methods

	420 (Fixed Dose)	423 (Acute Toxic Class)	425 (Up and Down)
Methodology	Single bolus dose. Young adult rats (one sex). Oral gavage with constant volume or concentration, clinical observations, bodyweight, mortality over 14 days. Necropsy at termination.		
Sighting study	Yes	No	No
Dose levels	Fixed doses of 5, 50, 300, 2000 (5000) mg/kg 5 rats per dose level	Fixed doses of 5, 50, 300, 2000 (5000) mg/kg 3 rats per dose level	Starting at best estimate of LD50 (or 175 mg/kg) and using dose progression factor of 3.2, single animals dosed until one of three stopping criteria met
Aim	Identify lowest fixed dose causing <b>evident toxicity</b>	Identify lowest fixed dose causing <b>mortality</b>	Estimate LD50
Output	Range estimate of LD50 Signs of acute toxicity. Target organ(s)	Range estimate of LD50 Signs of acute toxicity. Target organ(s)	Point estimate of LD50 with confidence intervals. Signs of acute toxicity. Target organ (s)



# Ensayos *in vitro*



## Annex V ( $\geq 1$ tonne)

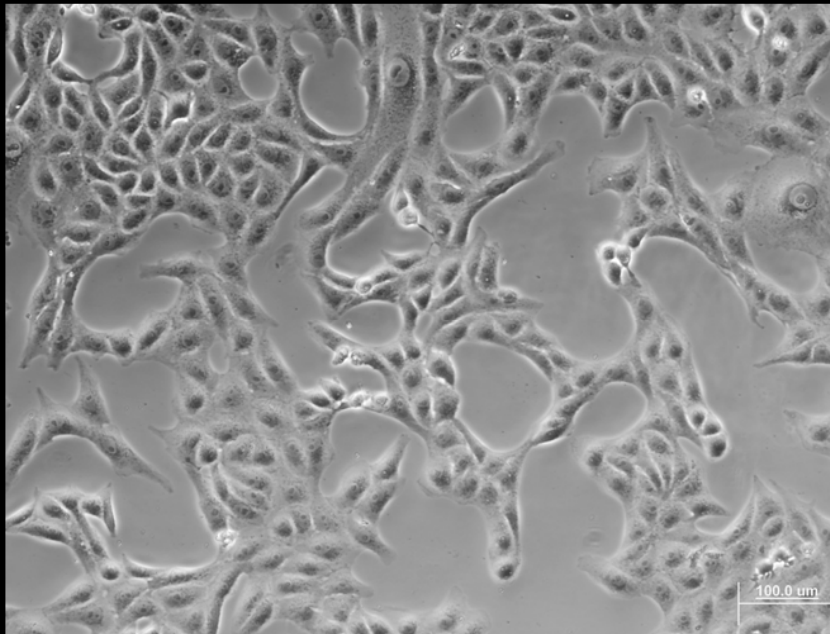
- Skin irritation/corrosion (*in vitro*)
- Eye irritation (*in vitro*)
- Skin sensitization (LLNA)
- Mutagenicity (*in vitro*)
- Acute toxicity test (*in vivo* / *in vitro*)



**Refinamiento**

**Reducción**

**Reemplazo**



- Órganos perfundidos
- Explantes
- Láminas de tejidos
- Cultivos organotípicos 3D
- Reagregados celulares
- Cultivos primarios
- Líneas celulares
- Fracciones subcelulares





# Ensayos *in vitro*

Annex V ( $\geq 1$  tonne)

Skin irritation/corrosion (*in vitro*)

Eye irritation (*in vitro*)

Skin sensitization (LLNA)

Mutagenicity (*in vitro*)

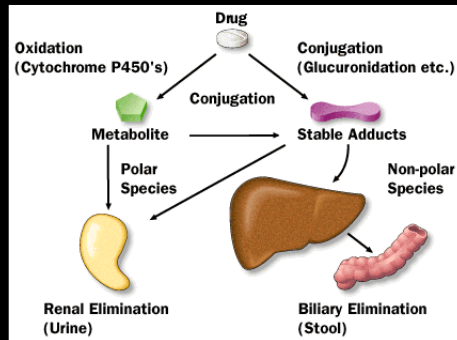
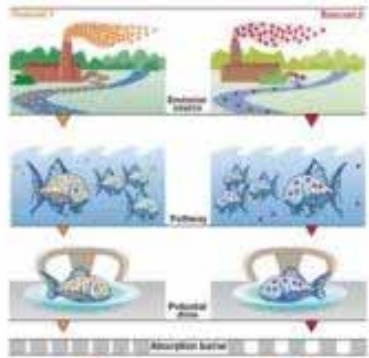
Acute toxicity test (*in vivo* / *in vitro*)

## CITOTOXICIDAD

Efectos adversos o interferencias con estructuras y/o propiedades esenciales para la supervivencia, proliferación y/o función celular

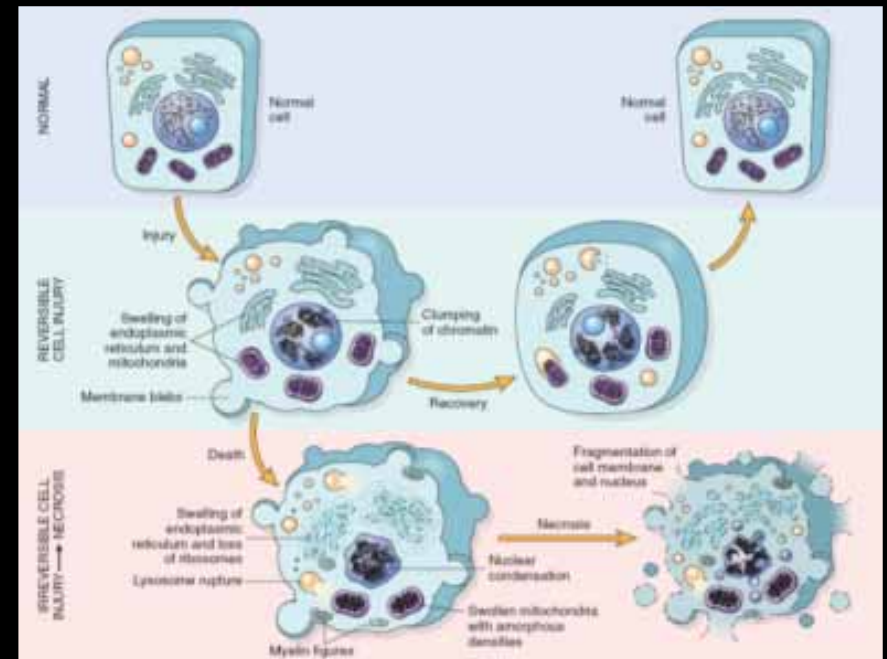
Efectos tóxicos

Alteración funcional



### Dosis efectiva

- ☺ Metabolito inocuo y eliminación.
- ☹ Eliminación incompleta del tóxico y sus metabolitos.
- ☠ Metabolito activo más tóxico que el compuesto original.







# Ensayos *in vitro*

Annex V ( $\geq 1$  tonne)

Skin irritation/corrosion (*in vitro*)

Eye irritation (*in vitro*)

Skin sensitization (LLNA)

Mutagenicity (*in vitro*)

Acute toxicity test (*in vivo* / *in vitro*)

## CITOTOXICIDAD

Efectos adversos o interferencias con estructuras y/o propiedades esenciales para la supervivencia, proliferación y/o función celular

Efectos tóxicos

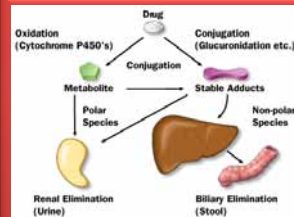
Alteración funcional



### Citotoxicidad basal

Implica la alteración de al menos un proceso o estructura celular.

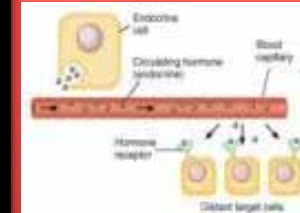
Sensibilidad es similar en tipos celulares de distinto origen.



### Citotoxicidad selectiva

Refleja daños órgano-específicos característicos.

Diferente sensibilidad en tipos celulares de distinto origen.



### Citotoxicidad específica

Afecta a funciones intercelulares vitales para el organismo.

Diferente sensibilidad en tipos celulares de distinto origen.



# Ensayos *in vitro*

Annex V ( $\geq 1$  tonne)

Skin irritation/corrosion (*in vitro*)

Eye irritation (*in vitro*)

Skin sensitization (LLNA)

Mutagenicity (*in vitro*)

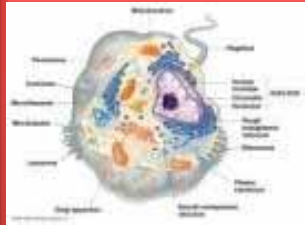
Acute toxicity test (*in vivo* / *in vitro*)

## CITOTOXICIDAD

Efectos adversos o interferencias con estructuras y/o propiedades esenciales para la supervivencia, proliferación y/o función celular

Efectos tóxicos

Alteración funcional



## Citotoxicidad basal

Implica la alteración de al menos un proceso o estructura celular.

Sensibilidad es similar en tipos celulares de distinto origen.

⚠ La mayoría de compuestos químicos reflejan su toxicidad a nivel basal.

⚠ Un reducido número de sustancias son tóxicas por interferencia con funciones organo-específicas o extracelulares.



# Ensayos *in vitro*

Annex V ( $\geq 1$  tonne)

Skin irritation/corrosion (*in vitro*)

Eye irritation (*in vitro*)

Skin sensitization (LLNA)

Mutagenicity (*in vitro*)

Acute toxicity test (*in vivo* / *in vitro*)

## CITOTOXICIDAD

Efectos adversos o interferencias con estructuras y/o propiedades esenciales para la supervivencia, proliferación y/o función celular

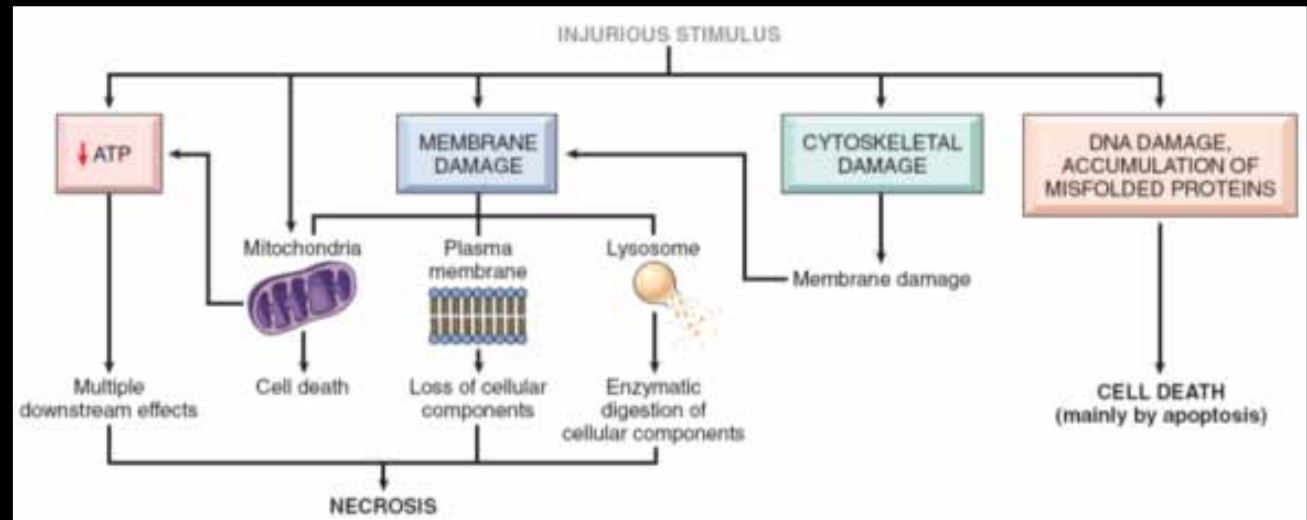
Efectos tóxicos

Alteración funcional

## Citotoxicidad basal

Implica la alteración de al menos un proceso o estructura celular.

Sensibilidad es similar en tipos celulares de distinto origen.





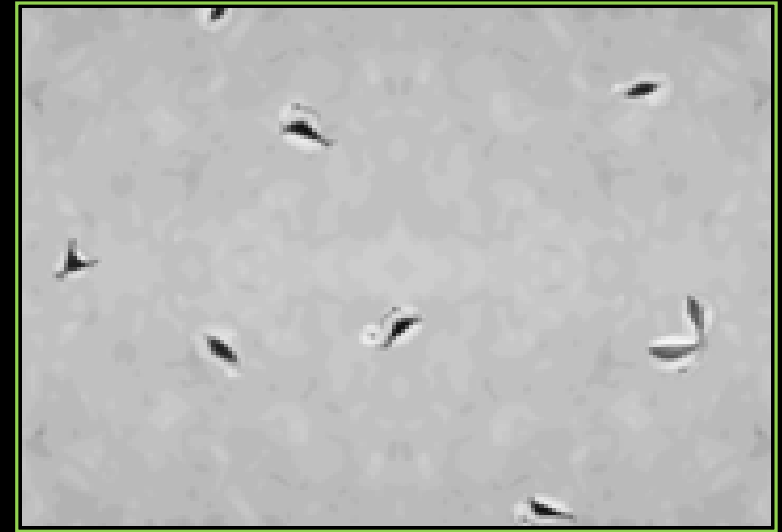
# Toxicidad aguda *in vitro*

La calidad y especificidad de los datos generados por los ensayos *in vitro* dependen de varios factores:

Correcta elección del modelo biológico.

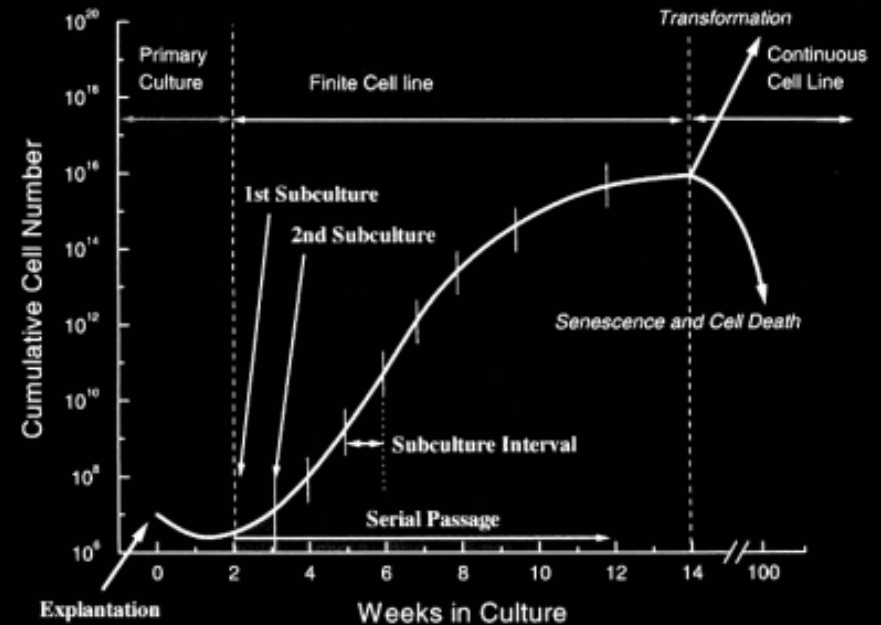
Selección de los parámetros adecuados

Valor predictivo del modelo.



## C. primarios      Líneas

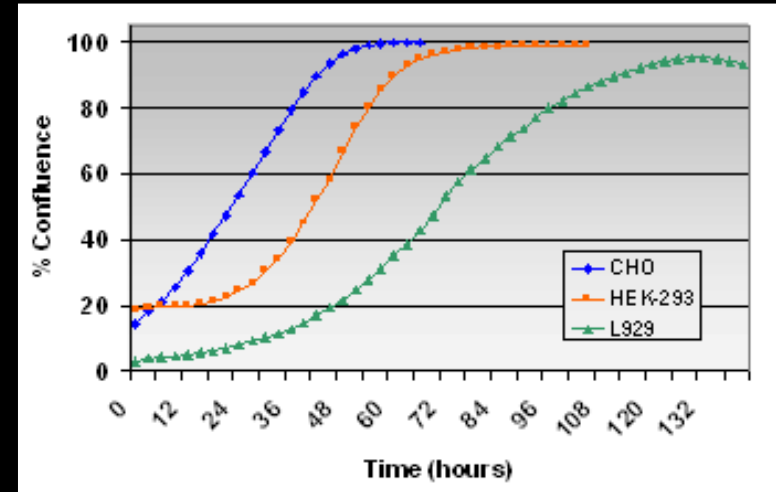
Ploidia	Diploide / Euploide	Aneuploide
Transformación	Normal	Transformada
Inhibición por contacto	Si	No
Mantenimiento	Cíclico	Posible quiescencia
Requerimientos de suero	Elevados	Bajos
Eficiencia de clonaje	Baja	Elevada
Marcadores	Pueden expresar marcadores específicos	Se suelen perder
Funciones especializadas	Se mantienen	Se suelen perder
Tasa de crecimiento	Baja (24 a 96 h tiempo de replicación)	Rápida (12 a 24 h)



# Modelos celulares

Table 1 | Popular mammalian culture cells

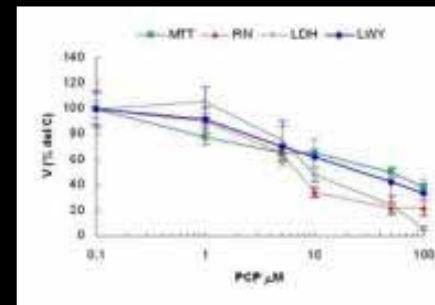
Cell name	Origin	Characteristics	Reference
HeLa	Human cervical carcinoma	Epithelial-like, aneuploid	124
293	Human embryonic kidney	Epithelial, aneuploid	125
MCF-7	Human breast	Epithelial, aneuploid	126
Saos-2	Human osteosarcoma	Epithelial, aneuploid	127
PC-3	Human prostate carcinoma	Epithelial, aneuploid	128
Jurkat	Human T-cell leukaemia	Lymphoblasts, pseudodiploid	129
Cos-7	Monkey kidney	Fibroblasts, aneuploid	130
Vero	African green monkey	Fibroblasts, aneuploid	131
CHO	Chinese hamster ovary	Epithelial-like, pseudodiploid	132
L-929	Mouse connective tissue	Fibroblasts, aneuploid	133
3T3	Mouse connective tissue	Fibroblasts, aneuploid	134
BHK-21	Syrian baby hamster kidney	Fibroblasts, diploid	135
HUVEC	Human umbilical-vein endothelial cells	Epithelial, diploid	136
ES-D3	Mouse embryonic stem cells	Epithelial, diploid	137



Las líneas celulares de mamífero son las más empleadas.

Facilidad de propagación.

Obtención de resultados reproducibles y relevantes.





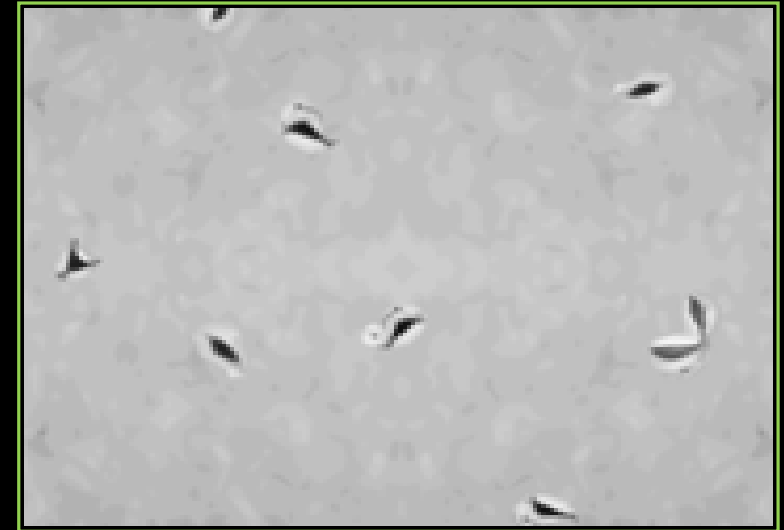
# Toxicidad aguda *in vitro*

La calidad y especificidad de los datos generados por los ensayos *in vitro* dependen de varios factores:

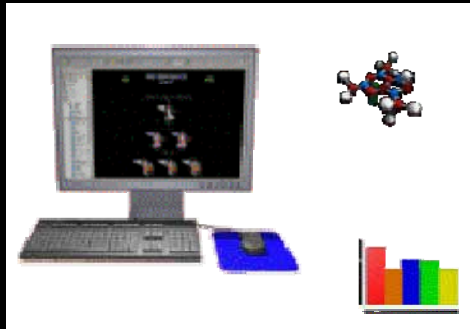
Correcta elección del modelo biológico.

Selección de los parámetros adecuados

Valor predictivo del modelo.



# Toxicidad aguda *in vitro*



Propiedades fisico-químicas  
Presencia en el medio  
Estudios epidemiológicos  
Datos toxicológicos previos *in vivo* e *in vitro*

Recopilación de información

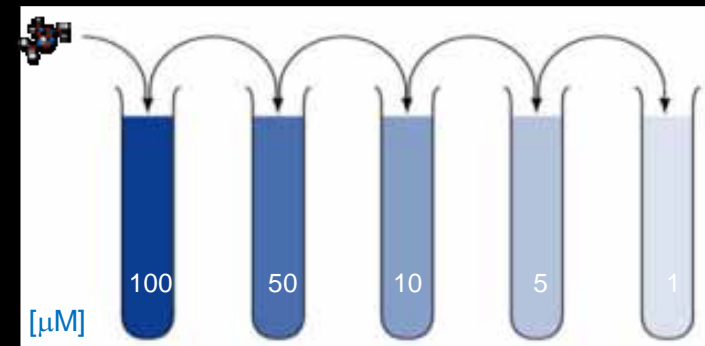
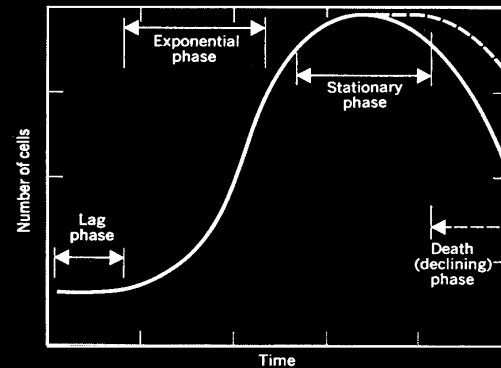
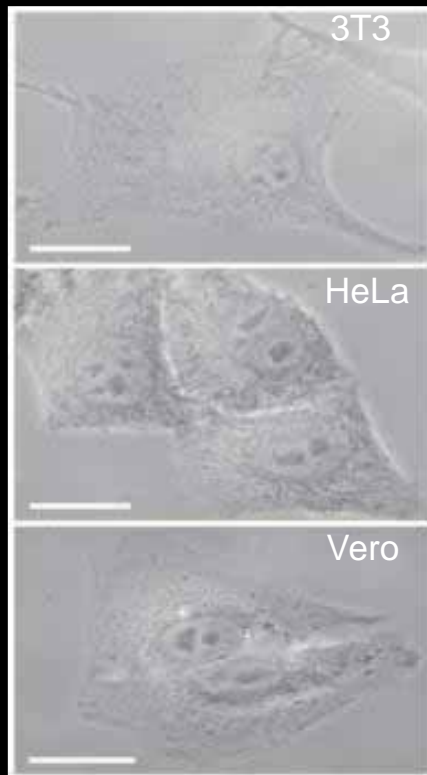


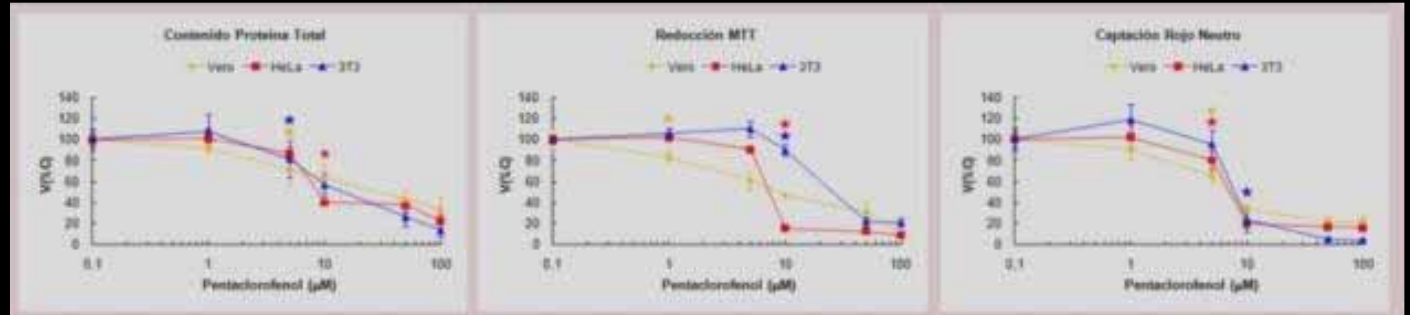
Figura 13

Esquema temporal general que indica el desarrollo de los tratamientos de los cultivos con los compuestos de referencia.

# Toxicidad aguda *in vitro*



Lectura espectrofotométrica



Parámetros clásicos de citotoxicidad basal



Análisis de datos



Morfología general

Retículo mitocondrial

Compartimento endosomal

Citoesqueleto

Microfilamentos

Microtúbulos



# Toxicidad aguda *in vitro*



Toxicology in Vitro xxx (2008) xxx–xxx

Contents lists available at ScienceDirect

**Toxicology in Vitro**

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/toxinvit](http://www.elsevier.com/locate/toxinvit)

*In vitro* assessment of the cytotoxic and mutagenic potential of perfluorooctanoic acid

P. Fernández Freire<sup>a</sup>, J.M. Pérez Martín<sup>a</sup>, O. Herrero<sup>ab</sup>, A. Peropadre<sup>a</sup>, E. de la Peña<sup>b</sup>, M.J. Hazen<sup>ac</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Biología, Edificio de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, O'Donovan, 2 Cantoblanco, 28049 Madrid, Spain  
<sup>b</sup>Grupo de Medio Ambiente, Centro de Estudios Medioambientales CSIC, 28002 Madrid, Spain



CAS 335-67-1

Estudios recientes de biomonitorización revelan el predominio de los niveles de PFCs, particularmente PFOA, en tejidos de la fauna de todo el mundo así como en el suero de las poblaciones generales humanas .

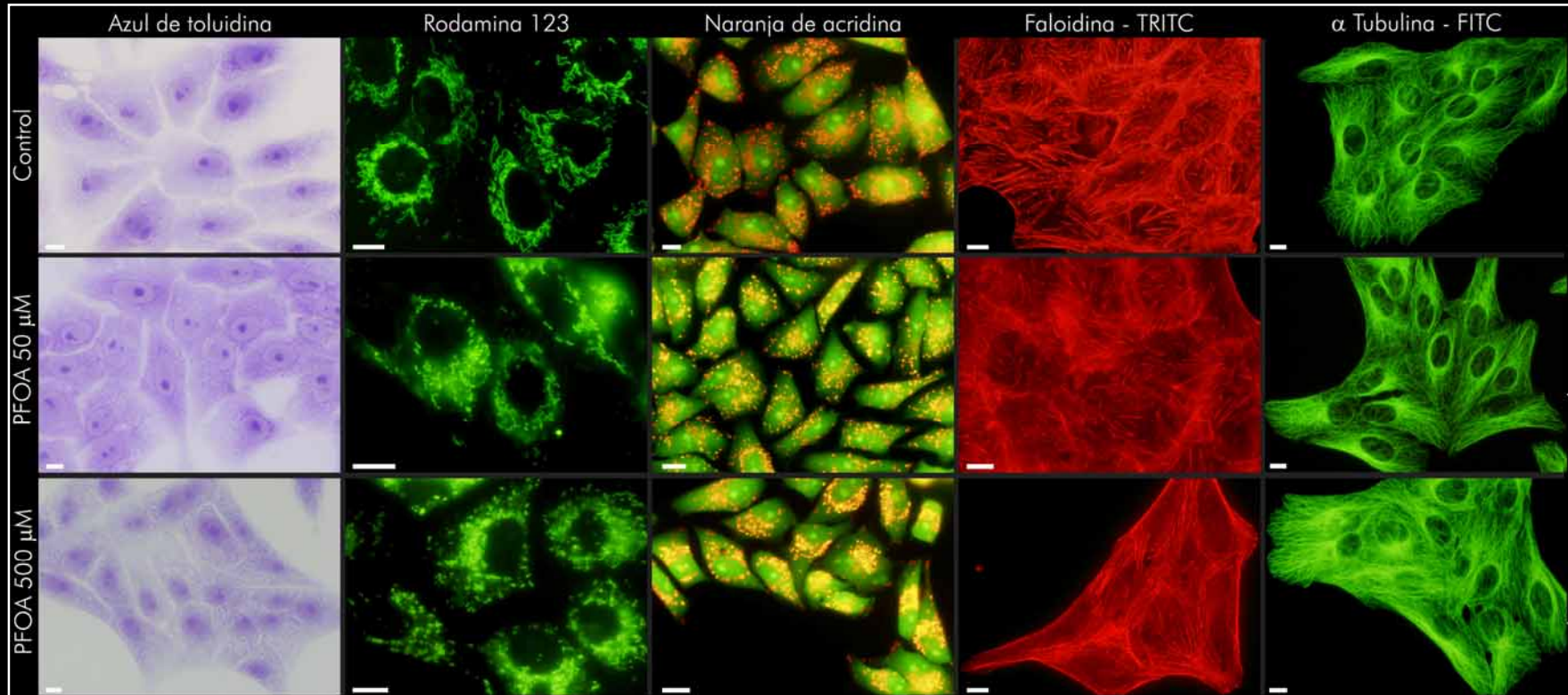
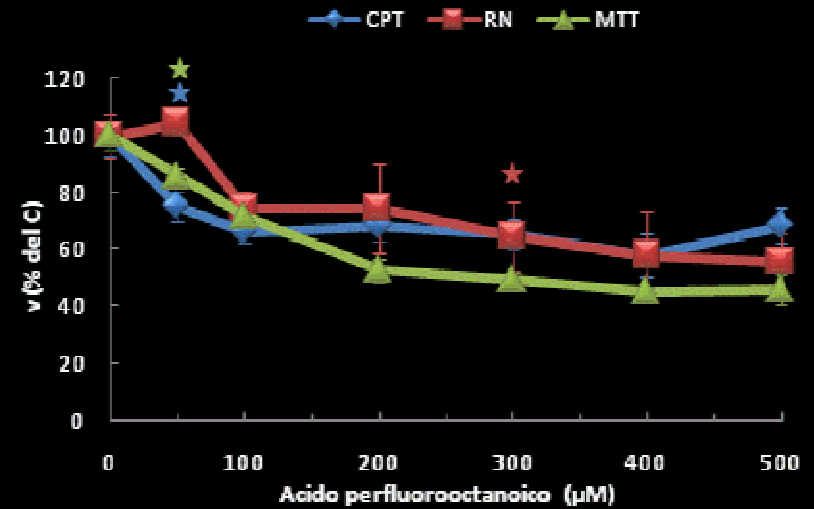
Las investigaciones no sugieren una asociación consistente entre la exposición al PFOA y problemas de salud significativos aunque el compuesto es considerado como un “probable” carcinógeno para los seres humanos (EPA, 2002).



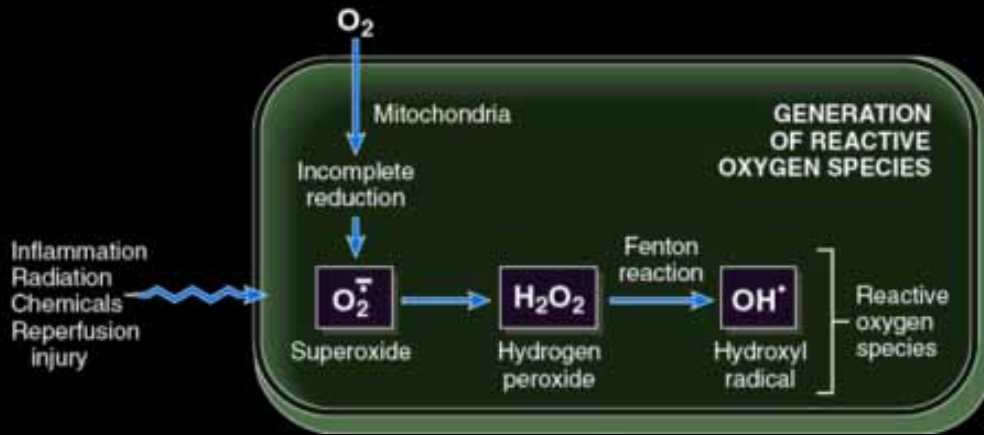
# Toxicidad aguda *in vitro*

Los ensayos de citotoxicidad basal muestran que las mitocondrias son la principal diana celular del PFOA.

Estrés oxidativo  
Proliferación  
Muerte celular



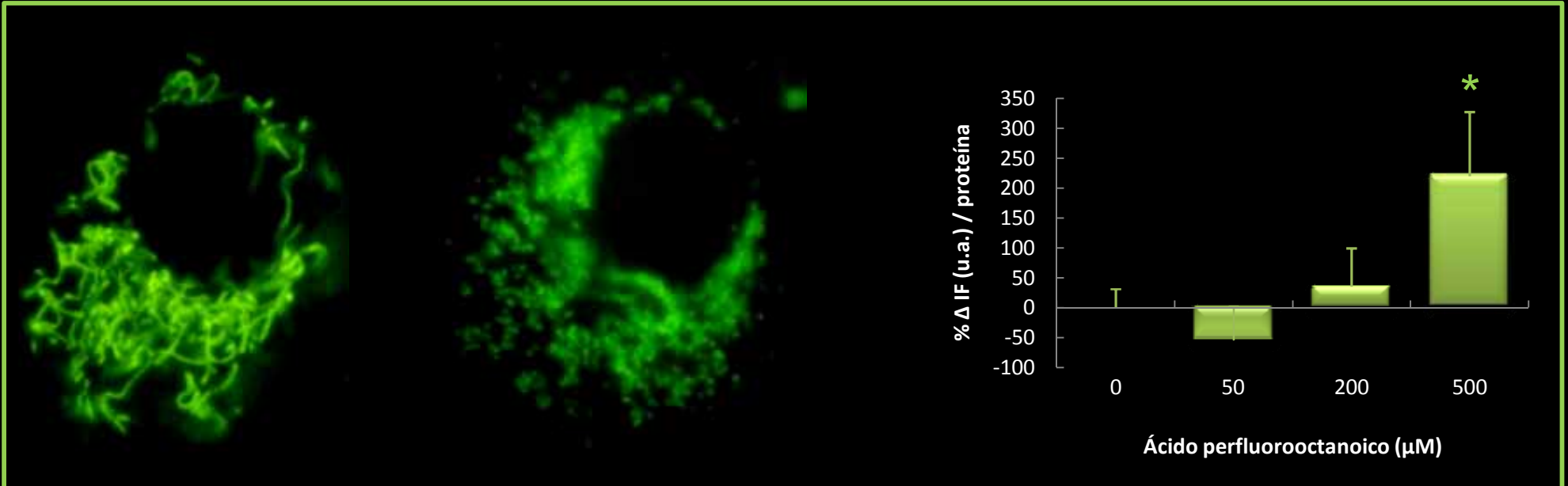
# Toxicidad aguda *in vitro*



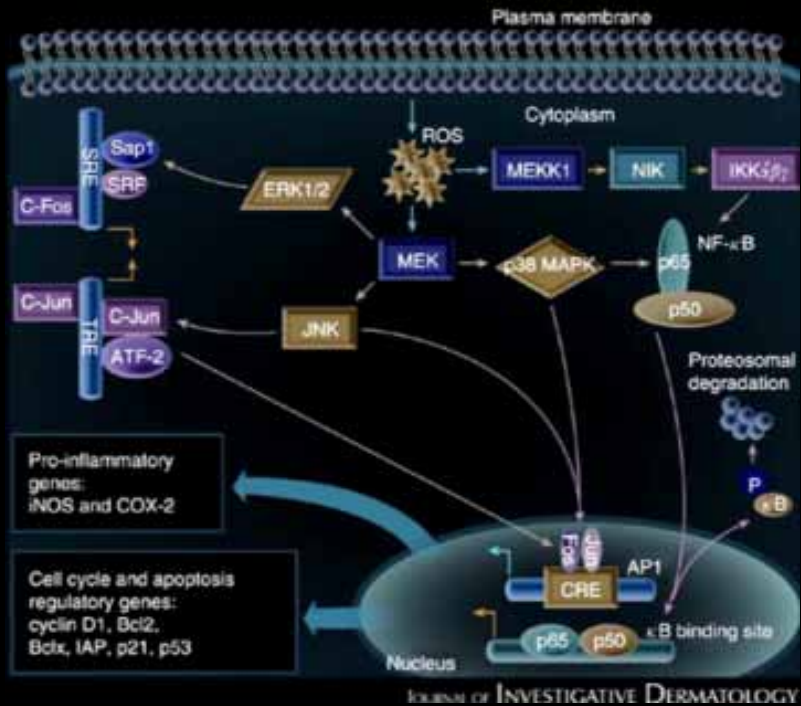
## Disfunción mitocondrial

Generación de radicales libres de oxígeno mediante cuantificación de la fluorescencia intracelular de diclorofluoresceína.

## ESTRÉS OXIDATIVO



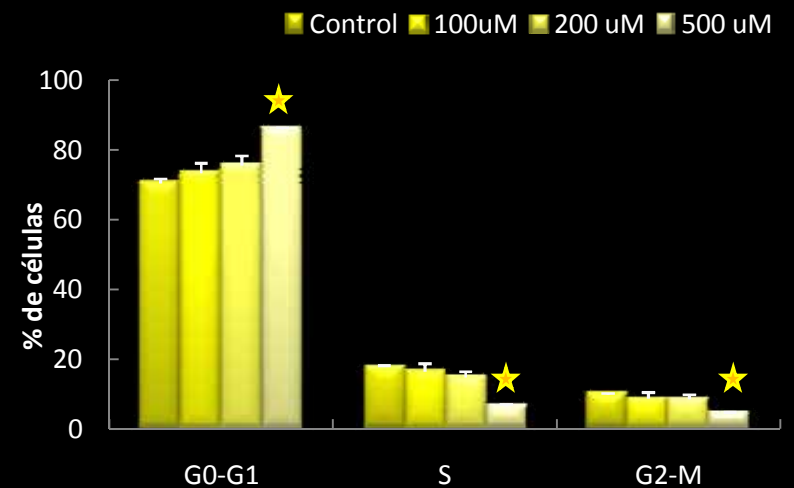
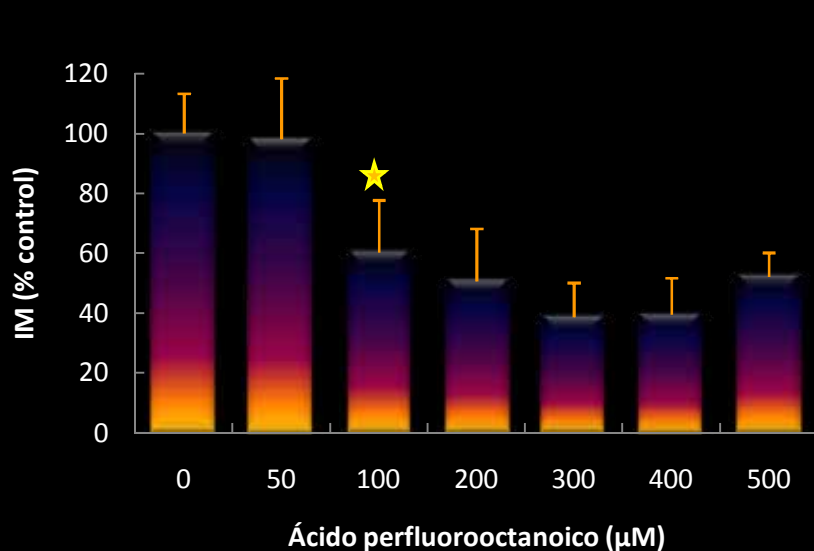
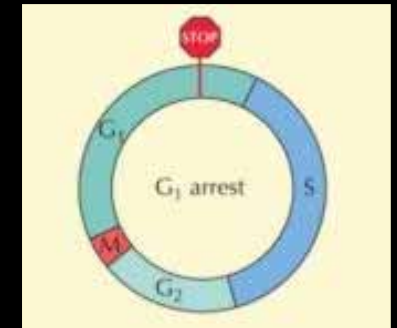
# Toxicidad aguda *in vitro*



## Proliferación celular

Recuento de índices mitóticos  
Citometría de flujo

## Parada de ciclo en fase G<sub>0</sub> / G<sub>1</sub>

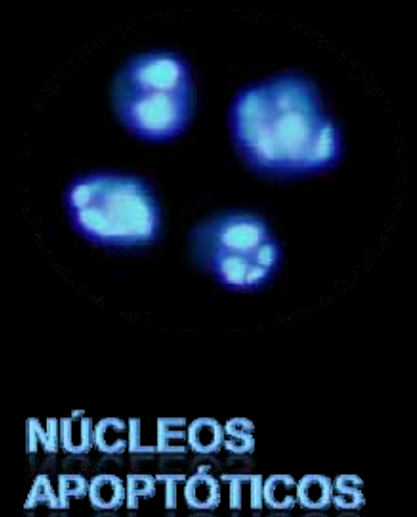
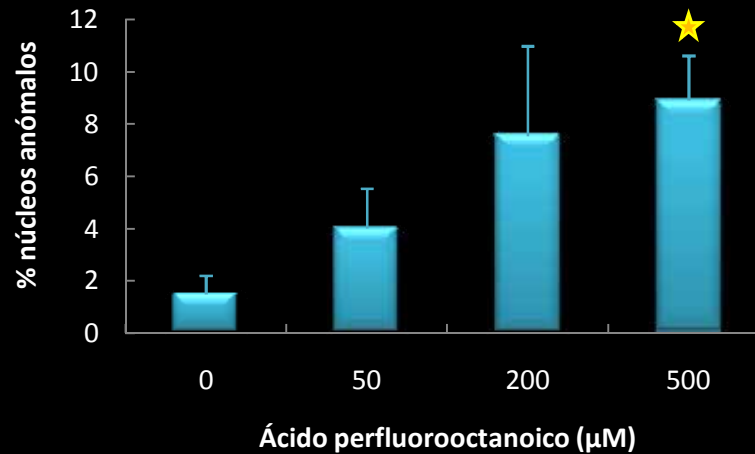
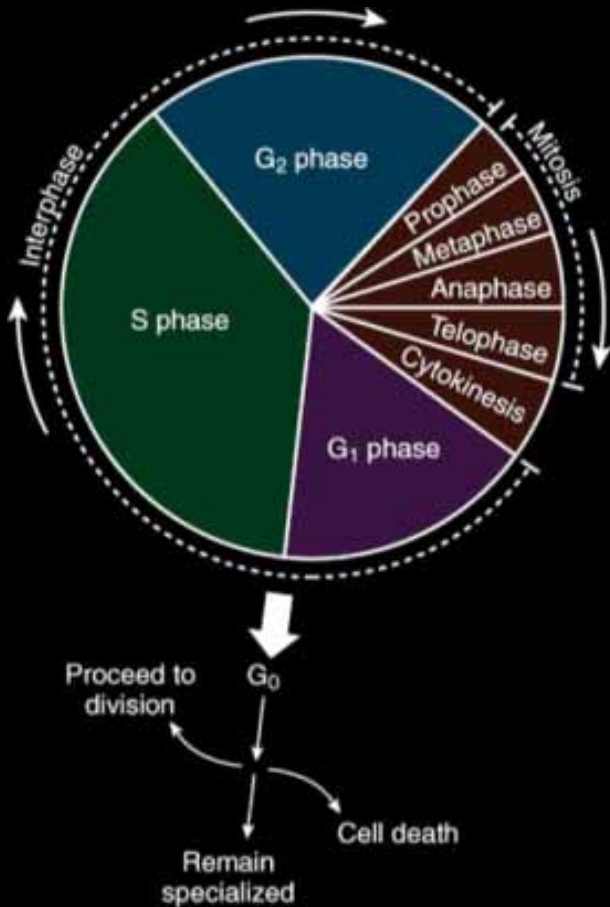




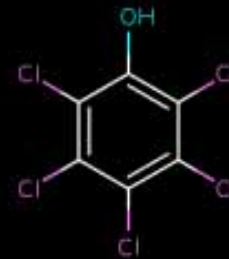
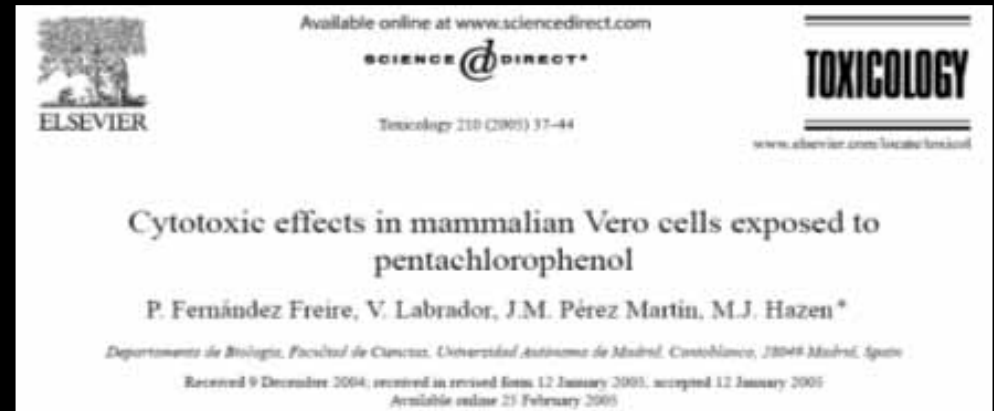
# Toxicidad aguda *in vitro*

## Muerte celular

Observación y recuento de morfologías nucleares.



# Toxicidad aguda *in vitro*



CAS 87-86-5

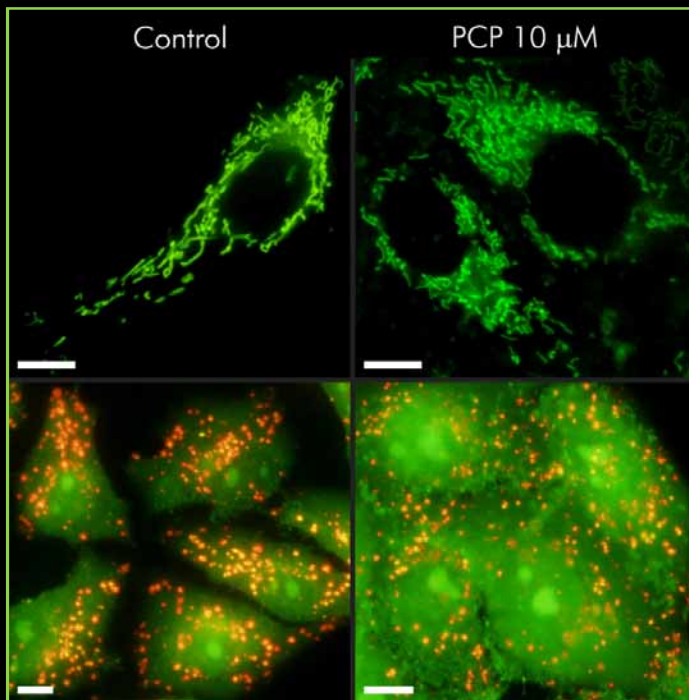
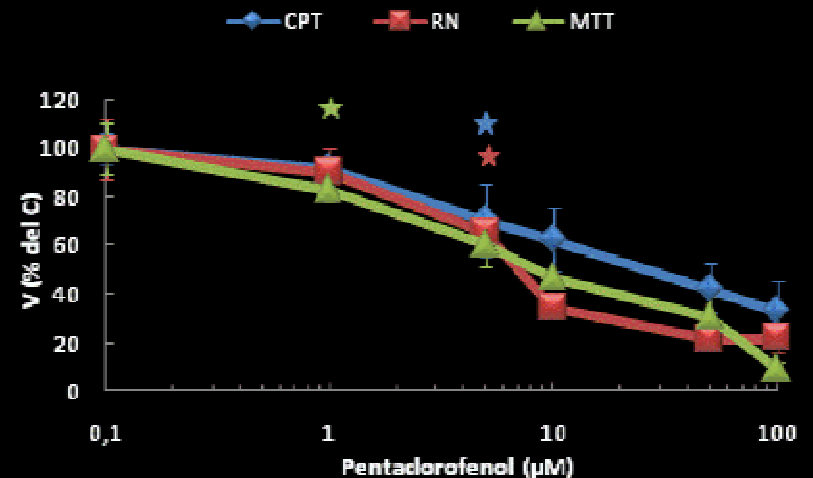
A pesar de que el uso está restringido en E.E.U.U. y Europa, se han detectado niveles de PCP en tejidos de la fauna de todo el mundo así como en el suero de las poblaciones generales humanas.

Es considerado un contaminante prioritario debido a su lenta e incompleta biodegradación y puede producir problemas de salud significativos al ser considerado como disruptor endocrino y “probable” carcinógeno en humanos (ATSDR, 2001).



# Toxicidad aguda *in vitro*

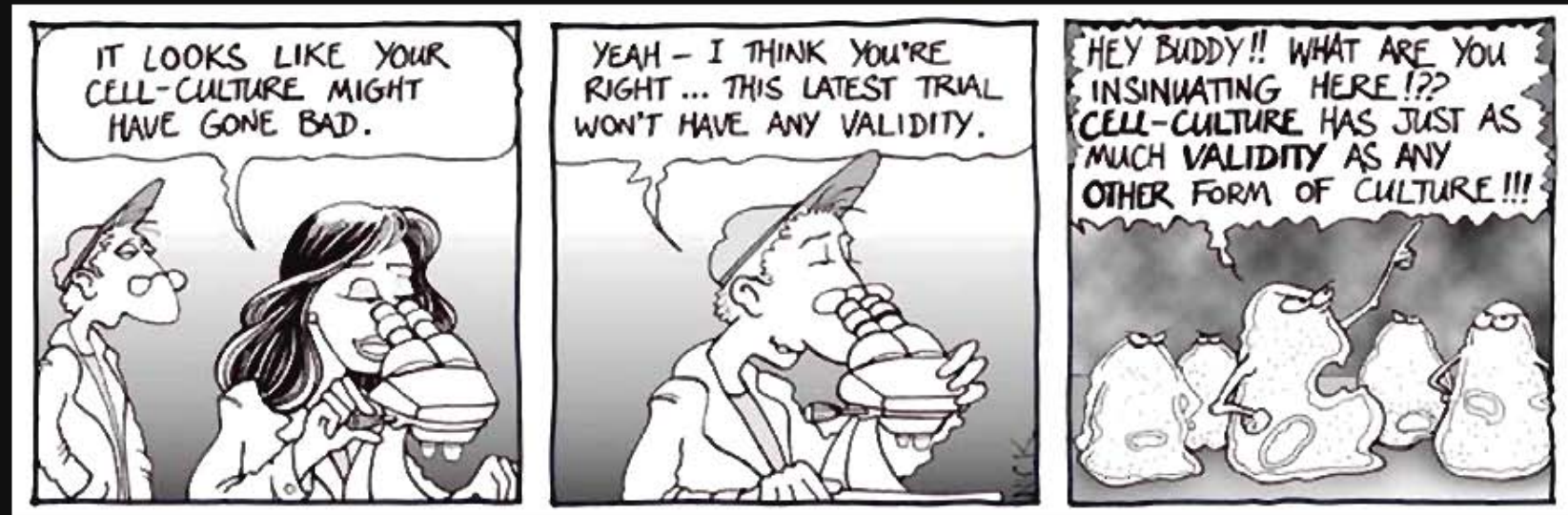
Los ensayos de citotoxicidad basal muestran que las mitocondrias y los lisosomas son dianas intracelulares celulares del PCP.



**Mitocondrias y compartimento endosomal afectados**

**Lisosomas primera diana subcelular**

# Toxicidad aguda *in vitro*



## Frank and Ernest





# Ensayos *in vitro*



# *CARCINOGENICIDAD*

## *de las Sustancias Químicas*



*Eduardo de la Peña de Torres*

*CSIC*

*Centro de Ciencias Medioambientales*

*[epena@ccma.csic.es](mailto:epena@ccma.csic.es)*

**Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de los Productos Químicos REACH**

Curso de Verano. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares. 1 – 4 de julio de 2008

# Laboratorio de

# Mutagénesis Ambiental

Centro de Ciencias Medioambientales  
Consejo Superior de Investigaciones Científicas



# **CARCINOGENICIDAD/MUTAGENICIDAD**

**1775. Percival Pott**

**describe epidemiológicamente la causa ambiental del cáncer en los niños deshollinadores de Londres**

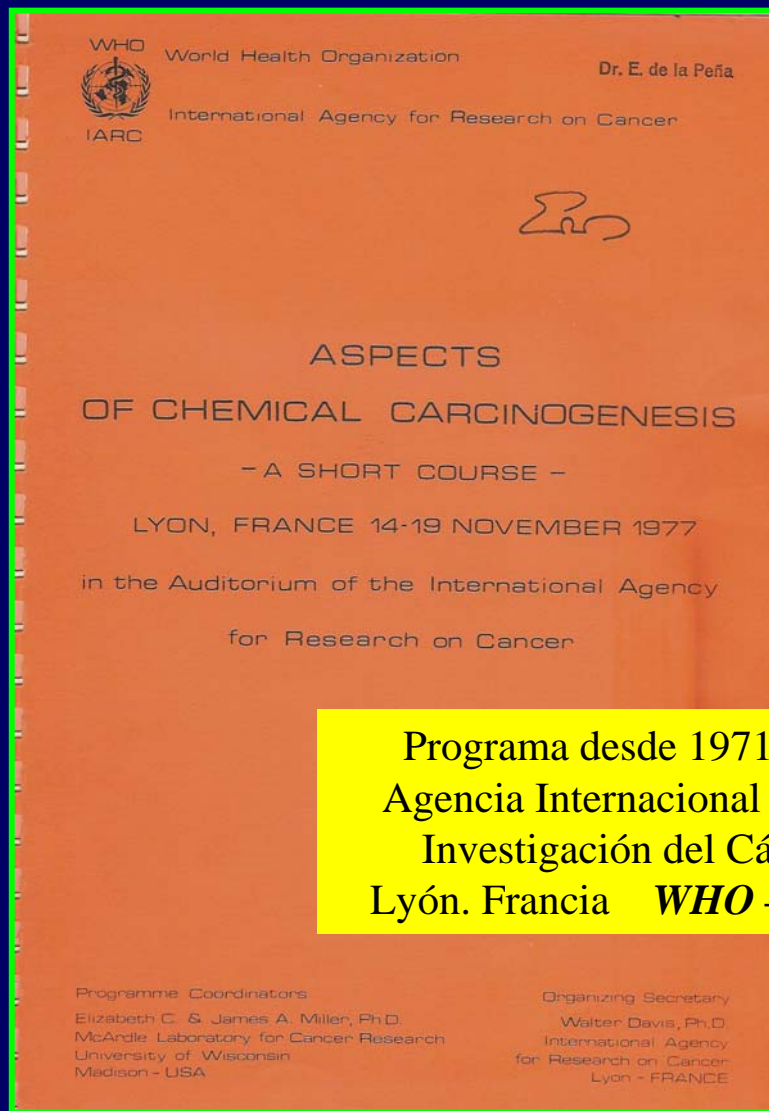
**1915. Yamahawa y Yosikawa**

**causan experimentalmente tumores en el pabellón auditivo de conejos por pincelación reiterada de alquitrán de hulla**

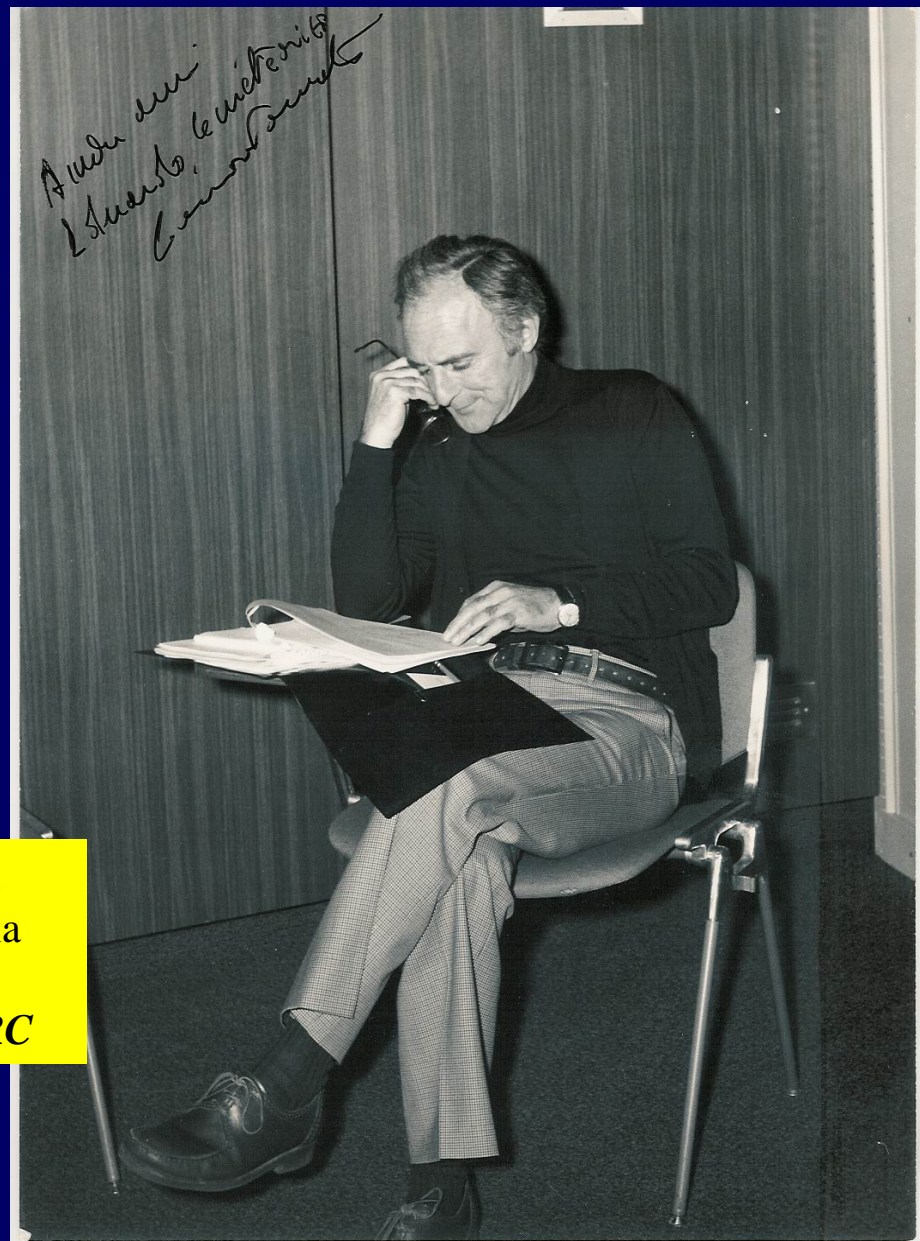
**1975. Bruce N. Ames et al.**

**correlaciona la actividad cancerígena y la mutagénica de 300 productos químicos**

1977



Programa desde 1971 de la  
Agencia Internacional para la  
Investigación del Cáncer  
Lyon. Francia **WHO - IARC**



**Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de los Productos Químicos REACH**  
Curso de Verano. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares. 1 - 4 de julio de 2008

1977

WORLD HEALTH  
ORGANIZATION



ORGANISATION MONDIALE  
DE LA SANTE

CENTRE INTERNATIONAL DE RECHERCHE SUR LE CANCER  
INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER

150, COURS ALBERT-THOMAS - 69372, LYON Cédex 2 - FRANCE  
Tel. (78) 75 81 81 - Télégr. Unicancer Lyon - Télex 380023 -

In reply please refer to: CHEMCA/TST

Prétre de rappeler la référence :

TO WHOM IT MAY CONCERN

Dr E. de la Peña de Torres spent a four month fellowship period in the Unit of Chemical Carcinogenesis of the IARC in 1977. During this period he carried out experimental work in the field of mutagenesis and chemical carcinogenesis with the specific aim of acquiring experience in methods related to the identification of environmental carcinogens.

I am pleased to acknowledge that Dr de la Peña de Torres has proved to possess a good theoretical background, an excellent technical ability and the capacity of rapidly understanding and mastering new laboratory techniques.

Furthermore, with the assistance of several members of our staff, he developed a plan for the establishment of a programme on the study of chemical carcinogenesis in Spain. This programme, aimed at providing useful data on which to base the implementation of primary prevention of cancer in humans, is based on the collection, retrieval and dissemination of existing information, as well as on the initiation of experimental studies of importance to the specific situation in his country. The programme is well conceived and takes into consideration a multidisciplinary approach to the prevention of cancer. As outlined, the project may have to be started on a limited scale, but should be expanded considerably in the future.

L. Tomatis, M.D.  
Chief  
Unit of Chemical Carcinogenesis

18 November 1977

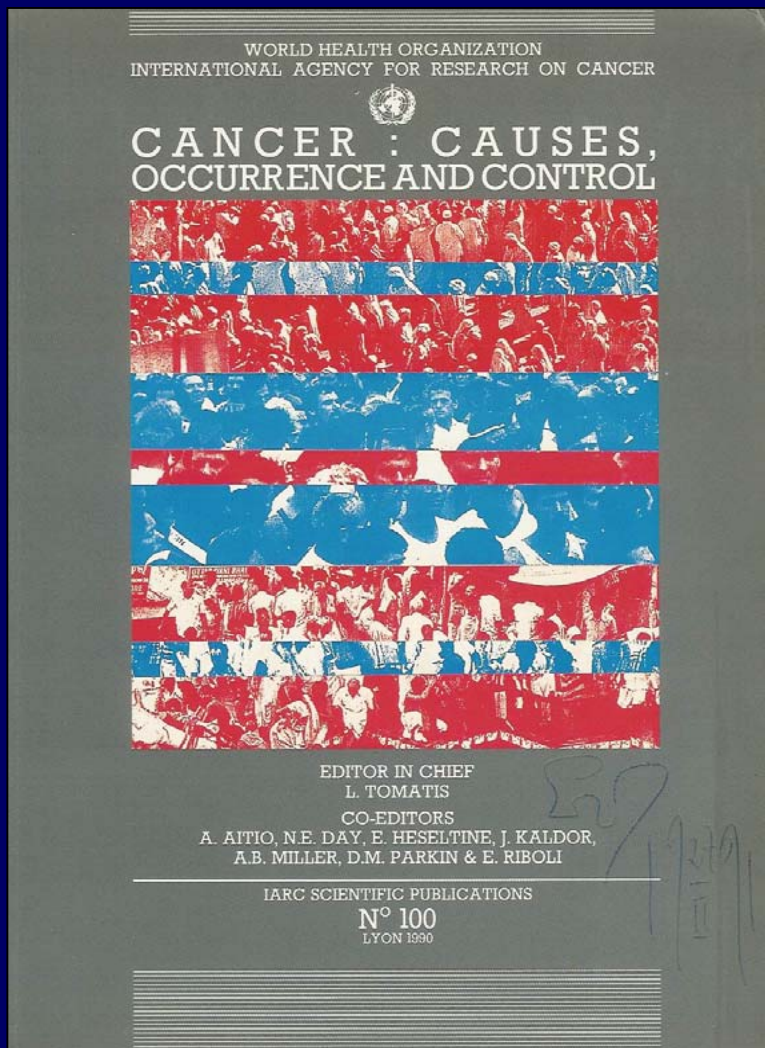


Programa desde 1971 de la

**Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer**

Lyón, Francia

**WHO - IARC**



WORLD HEALTH ORGANIZATION  
INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER



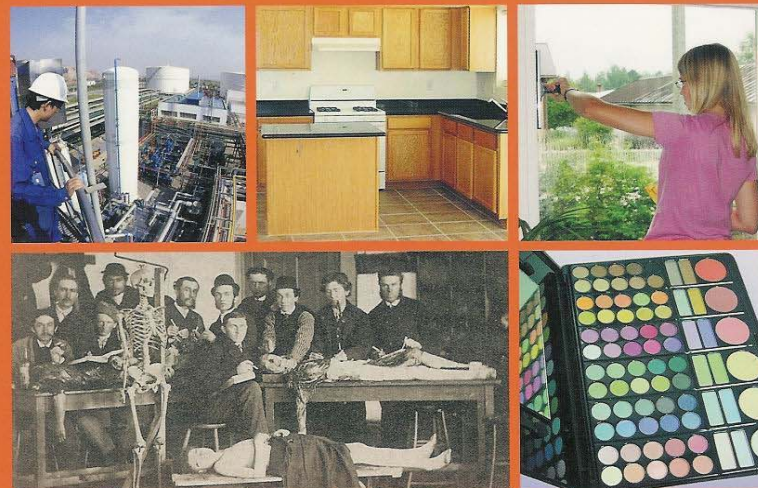
20

221  
V117

***IARC Monographs on the Evaluation of  
Carcinogenic Risks to Humans***

**VOLUME 88**

**Formaldehyde, 2-Butoxyethanol  
and 1-tert-Butoxypropan-2-ol**



LYON, FRANCE  
2006

**Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de los Productos Químicos REACH**

**Curso de Verano. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares. 1 – 4 de julio de 2008**

# EVALUCION DEL RIESGO DE UN PRODUCTO QUÍMICO

Propiedades Físico Químicas

TOXICIDAD  
para la Salud Humana

Medio Ambiente  
Ecotoxicología

Punto de Fusión

Carcinogenicidad

Toxicidad para Peces

Densidad

Mutagenicidad

Toxicidad para Daphnia

Estructura Química

Toxicidad para la Reproducción

DBO/DQO

Otros datos Físico-Químicos



**Tabla 1. ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS (Directiva 2001/59/CEE, 28a adapt. de la 67/548/CEE)**

**Nivel Básico**

**1. Toxicidad Aguda**

**1.2 Inhalatoria**

**1.3 Cutánea**

**1.4 Irritación dérmica**

**1.5 Irritación ocular**

**1.6 Sensibilización**

**2. Toxicidad Subaguda**

**2.1 Subaguda (28 días)**

**2.2 Dosis sin efecto**

**3. Otros efectos**

**3.1 Mutagenicidad**

**3.2 Detección de la Toxicidad para el proceso reproductor**

**3.3 Valoración del Comportamiento toxicocinético**

**Nivel 1**

**4. Estudios de Fertilidad: 1 especie, 1 generación**

**5. Estudio Teratológico: 1 especie, administración apropiada**

**6. Estudio de Toxicidad Subcrónica y/o Crónica**

**7. Estudios Adicionales de Mutagénesis**

**8. Datos Toxicocinéticos Básicos**

**Nivel 2**

**9. Estudios de Toxicidad Crónica**

**10. Estudios Carcinogenicidad**

**11. Estudios de Fertilidad de 3 generaciones**

**12. Estudios de Toxicidad relativos a los Efectos sobre el Desarrollo Perinatal y Postnatal**

**13. Estudios del Potencial Teratogénico**

**14. Estudios Toxicocinéticos adicionales**

**15. Ensayos suplementarios para investigar la Toxicidad para los Órganos o Sistemas**

# Ensayos Básicos requeridos para la Salud Humana

Objetivos	Métodos de Ensayo en la Unión Europea
Toxicidad aguda	[B.1: toxicidad aguda (oral) – SUPRIMIDA 25/01/01 B.1bis: toxicidad aguda (oral) método de dosis fija B.1tris: toxicidad aguda (oral) - la toxicidad aguda determina el método B.2: toxicidad aguda (inhalación) B.3: toxicidad aguda (dérmica)
Iritación	B.4: toxicidad aguda (irritación de la piel) B.5: toxicidad aguda (irritación de los ojos)
Corrosión	B.40: corrosión de la piel
Sensibilización de la piel y la respiración	B.6: Sensibilización de la piel no hay método para la sensibilización respiratoria en el Anexo V
Toxicidad de la dosis repetida	B.7: repetición de la dosis a los 28 días. Toxicidad oral B.8: repetición de la dosis a los 28 días. Toxicidad por inhalación B.9: repetición de la dosis a los 28 días. Toxicidad dérmica
Mutagenicidad y genotoxicidad	

# Ensayos Básicos requeridos para Salud Humana-Mutagenicidad

## Objetivos

## Métodos de Ensayo en la Unión Europea

### Mutagenicidad y genotoxicidad

- B.10: mutagenicidad (metodo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en células de mamífero )
- B.11: mutagenicidad (metodo *in vivo* de aberraciones cromosómicas en médula ósea de mamífero)
- B.12: mutagenicidad en mamíferos por el método de micronucleos
- B.13/14: mutagenicidad - ensayo de mutación reversa utilizando bacteria
- B.15: mutación génica – *Saccharomyces cerevisiae*
- B.16: recombinación mitótica – *Saccharomyces cerevisiae*
- B.17: mutagenicidad – ensayo *in vitro* de mutación genética en células de mamífero
- B.18: Daño y reparación del DNA – síntesis no secuencial de DNA – células de mamífero *in vitro*
- B.19: ensayo *in vitro* de intercambio de cromátidas hermanas
- B.20: ensayo del letal recesivo ligado al sexo en *Drosophila melanogaster*
- B.21: ensayo *in vitro* de transformación de células de mamífero
- B.22: ensayo de letal dominante en roedores
- B.23: ensayo de aberraciones cromosómicas en el espermatozoides de mamíferos
- B.24: *spot test* en ratones
- B.25: translocación heredable en ratón
- B.39: ensayo *in vivo* de síntesis desordenada de DNA en células hígado mamífero

# Nivel 1. Ensayos requeridos para a Salud Humana

Objetivos	Métodos de Ensayo en la Unión Europea
Toxicidad subcrónica y/o crónica	<p><b>B.26:</b> ensayo de toxicidad oral subcrónica: cada 90 días se repite la dosis oral en otra especie roedora.</p> <p><b>B.27:</b> ensayo de toxicidad oral subcrónica: cada 90 días se repite la dosis oral en otra especie no roedora.</p> <p><b>B.28:</b> ensayo de toxicidad dérmica subcrónica: cada 90 días se repite la dosis dermal en especie roedora.</p> <p><b>B.29:</b> ensayo de toxicidad subcrónica por inhalación: cada 90 días se repite la dosis por inhalación en especie roedora</p> <p><b>B.30:</b> ensayo de toxicidad crónica</p>
Toxicidad del desarrollo	<p><b>B.31:</b> ensayo de teratogenicidad – roedores y no roedores</p>
Estudios de fertilidad	<p><b>B.31:</b> ensayo de toxicidad en la reproducción, en la primera generación</p> <p><b>B.32:</b> ensayo de toxicidad en la reproducción, en la segunda generación</p>
Estudios de mutagenicidad adicional	<p><b>Un ensayo adicional con células somáticas o germinales no utilizado.</b></p>
Toxicocinéticas	<p><b>Toxicocinéticas</b></p>

## Nivel 2. Ensayos requeridos para los objetivos Salud Humana

Objetivos	Métodos de Ensayo en la Unión Europea
Toxicidad crónica	<b>B.30: ensayo de toxicidad crónica</b>
<b>Carcinogenicidad</b>	<b>B.21: ensayo <i>in vitro</i> de transformación de células de mamífero</b> <b>B.32: ensayo de carcinogenicidad</b> <b>B.33: ensayo combinado de toxicidad crónica/carcinogenicidad</b>
Toxicidad del desarrollo	Estudios en especies no utilizadas en el nivel 1
Toxicidad del desarrollo	Para efectos peri y post-natal
Estudios de fertilidad	Extendiéndose al B.35: ensayo de toxicidad en la reproducción, en la tercera generación
<b>Estudios de mutagenicidad adicional</b>	Para cubrir, por ejemplo, la biotransformación
Toxicidad de órganos adicionales o sistémicos	B.7 : incluye la neurotoxicidad e inmunotoxicidad B.37: retraso de neurotoxicidad de organofosforados siguiendo una exposición aguda B.38: estudio en el retraso de neurotoxicidad de organofosforados repitiendo la dosis cada 28 días

**Table 3.** Overview of toxicological in vivo and in vitro testing methods accepted for regulatory purposes

<i>Toxicological endpoint</i>	<i>In vivo methods (no. of OECD test guideline in brackets)</i>	<i>In vitro methods (no. of OECD test guideline in brackets, if applicable)</i>
<b>6. Sensitation</b>	<i>Skin Sensitation (406)<sup>f</sup></i> <i>Local lymph node assay (LLNA) (429)<sup>f</sup></i>	
<b>7. Hepatotoxicity</b>	<i>Repeated dose toxicity study in rodents oral (28 day) (407)<sup>f</sup></i> <i>dermal (21/28 day) (410)<sup>f</sup> or inhalation</i>	
<b>8. Nephrotoxicity</b>	<i>(28-day or 14-day study) (412)<sup>f</sup></i> <i>Combined repeated dose toxicity study with the</i>	
<b>9. Hematotoxicity</b>	<i>reproduction/developmental toxicity screening test (422)<sup>f</sup></i> <i>Repeated dose 90-day toxicity study oral in rodents (408)<sup>f</sup></i>	
<b>10. Cardiotoxicity</b>	<i>or no rodents (409)<sup>f</sup>, dermal (411)<sup>f</sup> or inhalation (413)<sup>f</sup></i> <i>Chronic toxicity studies (452)<sup>f</sup></i>	
<b>11. Endocrine effects</b>	<i>Two generation reproduction toxicity study (408)<sup>f</sup></i> <i>Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents;</i> <i>updated with parameters for endocrine effects</i> <i>(May 2007 version) (407<sup>d</sup>)<sup>f</sup></i>	
<b>12. Neurotoxicity</b>	<i>Delayed neurotoxicity of organophosphorus substances following</i> <i>acute exposure (418)<sup>f</sup></i> <i>Delayed neurotoxicity of organophosphorus substances</i> <i>28-day repeated dose study (419)<sup>f</sup></i> <i>Neurotoxicity study in rodents (424)<sup>f</sup></i>	

**Table 3.** Overview of toxicological in vivo and in vitro testing methods accepted for regulatory purposes

<i>Toxicological endpoint</i>	<i>In vivo methods (no. of OECD test guideline in brackets)</i>	<i>In vitro methods (no. of OECD test guideline in brackets, if applicable)</i>
<b>13. Immunotoxicity</b>		
<b>14. Prenatal development</b>	<i>Prenatal developmental toxicity study (414)<sup>f</sup></i>	<i>Whole embryo culture (WEC)<sup>g</sup></i> <i>Micromass Test (MM)<sup>g</sup></i> <i>Embryonic stem cell (EST)<sup>g</sup></i>
<b>Pre- and postnatal development</b>	<i>Two generation reproduction toxicity study (416)<sup>f</sup></i> <i>Developmental neurotoxicity study (426)<sup>f</sup></i>	
<b>15. Fertility</b>	<i>Combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (422)<sup>f</sup></i> <i>Reproduction/developmental toxicity screening test (421)<sup>f</sup></i> <i>Repeated dose 28-day toxicity study (407, 410, 412)<sup>f</sup></i> <i>Repeated dose 90-day toxicity study (408, 409, 411, 413)<sup>f</sup></i> <i>One-generation reproduction toxicity study (415)<sup>f</sup></i> <i>Two generation reproduction toxicity study (416)<sup>f</sup></i>	

**Table 3.** Overview of toxicological in vivo and in vitro testing methods accepted for regulatory purposes

<i>Toxicological endpoint</i>	<i>In vivo methods (no. of OECD test guideline in brackets)</i>	<i>In vitro methods (no. of OECD test guideline in brackets, if applicable)</i>
<b>16. Genotoxicity, mutagenicity</b>	<i>Mammalian erythrocyte micronucleus test (474)<sup>f</sup></i> <i>Mammalian bone marrow chromosomal aberration test (475)<sup>f</sup></i> <i>Sex-linked recessive lethal test in Drosophila melanogaster (477)<sup>f</sup></i> <i>Rodent dominant lethal test (478)<sup>f</sup></i>  <i>Mammalian spermatogonial chromosome aberration test (483)<sup>f</sup></i> <i>Mouse spot test (484)<sup>f</sup></i> <i>Mouse heritable translocation assay (485)<sup>f</sup></i>  <i>Unscheduled DNA synthesis (UDS) test with mammalian liver cells (486)<sup>f</sup></i>	<i>Bacterial reverse mutation test (471)<sup>f</sup></i> <i>Saccharomyces cerevisiae, gene mutation assay (480)<sup>f</sup></i> <i>Saccharomyces cerevisiae, mitotic recombination assay (481)<sup>f</sup></i> <i>Mammalian chromosome aberration test (473)<sup>f</sup></i> <i>Mammalian cell gene mutation test (476)<sup>f</sup></i>  <i>Micronucleus test (487<sup>e</sup>)<sup>f</sup></i> <i>Sister chromatid exchange assay in mammalian cells (479)<sup>f</sup></i> <i>DNA damage and repair, UDS in mammalian cells (482)<sup>f</sup></i>
<b>16. Carcinogenicity</b>	<i>Carcinogenicity studies (451)<sup>f</sup></i> <i>Combined chronic toxicity/carcinogenicity studies (453)<sup>f</sup></i>	<i>Cell transformation assays (SHE, Balb/c 3T3, C3H10T)<sup>g</sup></i>



**Table 4.** Current developments of alternative methods according to an expert group on behalf of the EU Commission: Status at the end of 2003 (according to Eskes and Zuang 2005)

<i>Health effect or test area</i>	<i>Current status of test development</i>	<i>Estimated time to achieve</i>	
		<i>Scientific acceptance by ECVAM</i>	<i>Full replacement of animal tests<sup>a</sup></i>
<i>Genotoxicity and mutagenicity</i>	<i>Seven in vitro tests accepted at the EU and OECD level<sup>b</sup>, several tests under R&amp;D or optimised</i>	<i>1-6 years for optimised tests, &gt; 6 years for tests under R&amp;D,</i>	<i>&gt; 12 years</i>
<i>Toxicokinetics and metabolism</i>	<i>In vitro tests under R&amp;D, partly optimised, In silico methods under R&amp;D, test batteries and test strategies required</i>	<i>3-8 years &gt; 12 years including excretion</i>	<i>≥ 10 years</i>
<i>Carcinogenicity</i>	<i>Three optimised tests accepted at the EU level<sup>b</sup>, One tests under R&amp;D, test batteries and test strategies required</i>	<i>5 years for optimised tests, &gt; 10 years for test under R&amp;D,</i>	<i>Not estimated<sup>c</sup></i>
<i>Reproductive and developmental toxicity</i>	<i>Three validated tests accepted at the EU level<sup>b</sup>, Several tests under (pre) validation or R&amp;D, test batteries and test strategies required</i>	<i>0 years 6 and &gt;10 years for tests under (pre) validation and R&amp;D, respectively</i>	<i>Not estimated<sup>c</sup></i>

Lilienblum *et al.* *Arch. Toxicol.*, 2008

# REQUISITOS DE INFORMACIÓN ESTÁNDAR APLICABLES A LAS SUSTANCIAS FABRICADAS O IMPORTADAS EN CANTIDADES IGUALES O SUPERIORES A 1 TONELADA <sup>(1)</sup>

## 8. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

<i>COLUMNA 1 REQUISITOS DE INFORMACIÓN ESTÁNDAR</i>	<i>COLUMNA 2 NORMAS ESPECÍFICAS PARA LA ADAPTACIÓN DE LA COLUMNA 1</i>
<p>8.3. <i>Sensibilización cutánea</i></p> <p><i>La evaluación de este efecto constara de las etapas consecutivas siguientes:</i></p> <p>1) <i>evaluación de los datos disponibles humanos, a animales y otros;</i></p> <p>2) <i>ensayo in vivo.</i></p>	<p>8.3. <i>No es necesario realizar la etapa 2 si:</i></p> <p><i>la información disponible indica que la sustancia debería ser clasificada por su sensibilización o corrosividad cutánea, o</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li><i>- la sustancia es un ácido fuerte (pH &lt; 2,0) o una base fuerte (pH &gt; 11,5), o</i></li><li><i>- la sustancia es inflamable en el aire a temperatura ambiente.</i></li></ul> <p><i>El ensayo local en nódulos linfáticos de ratón (LLNA) es el método de primera elección en los ensayos in vivo. Solo en circunstancias excepcionales debería recurrirse a otro. Debería motivarse la utilización de otro tipo de ensayo.</i></p>
<p>8.4. <i>Mutagenicidad</i></p> <p>8.4.1. <i>Estudio in vitro de la mutación génica en bacterias</i></p>	<p>8.4. <i>Cuando se obtenga un resultado positivo, se tendrán en cuenta nuevos estudios de mutagenicidad.</i></p>
<p>8.5. <i>Toxicidad aguda</i></p> <p>8.5.1. <i>Por vía oral</i></p>	<p>8.5. <i>No es necesario realizar en general el estudio o los estudios si:</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li><i>- la sustancia es clasificada como corrosiva para la piel.</i></li></ul> <p><i>No es necesario realizar el estudio si se dispone de un estudio sobre toxicidad aguda por vía de inhalación (8.5.2).</i></p>

# Ensayos requeridos del REACH por tonelaje

Volumen (toneladas por año)	Ensayos requeridos
1-10	Los ensayos deberían limitarse a métodos <i>in vitro</i> (17-11-05) <b>Eliminados del REACH / Parlamento Europeo</b>
10-100	Ensayos Básicos
100-1000	Ensayos Básicos + ensayo nivel 1. por ejemplo: ensayo a medida de larga duración para una determinada sustancia
>1000	Ensayo Básicos + ensayo nivel 2. por ejemplo: ensayo adicional a medida de larga duración para una determinada sustancia

## 5. VALORACIÓN DEL PELIGRO PARA LA SALUD HUMANA

5.1. Toxicocinética (absorción, metabolismo, distribución y eliminación)

5.2. Toxicidad aguda

5.3. Irritación

5.3.1. Piel

5.3.2. Ojos

5.3.3. Vías respiratorias

5.4. Corrosividad

5.5. Sensibilización

5.5.1. Piel

5.5.2. Sistema respiratorio

5.6. Toxicidad por dosis repetidas

5.7. Mutagenicidad

5.8. Carcinogenicidad

5.9. Toxicidad para la reproducción

5.9.1. Efectos en la fertilidad

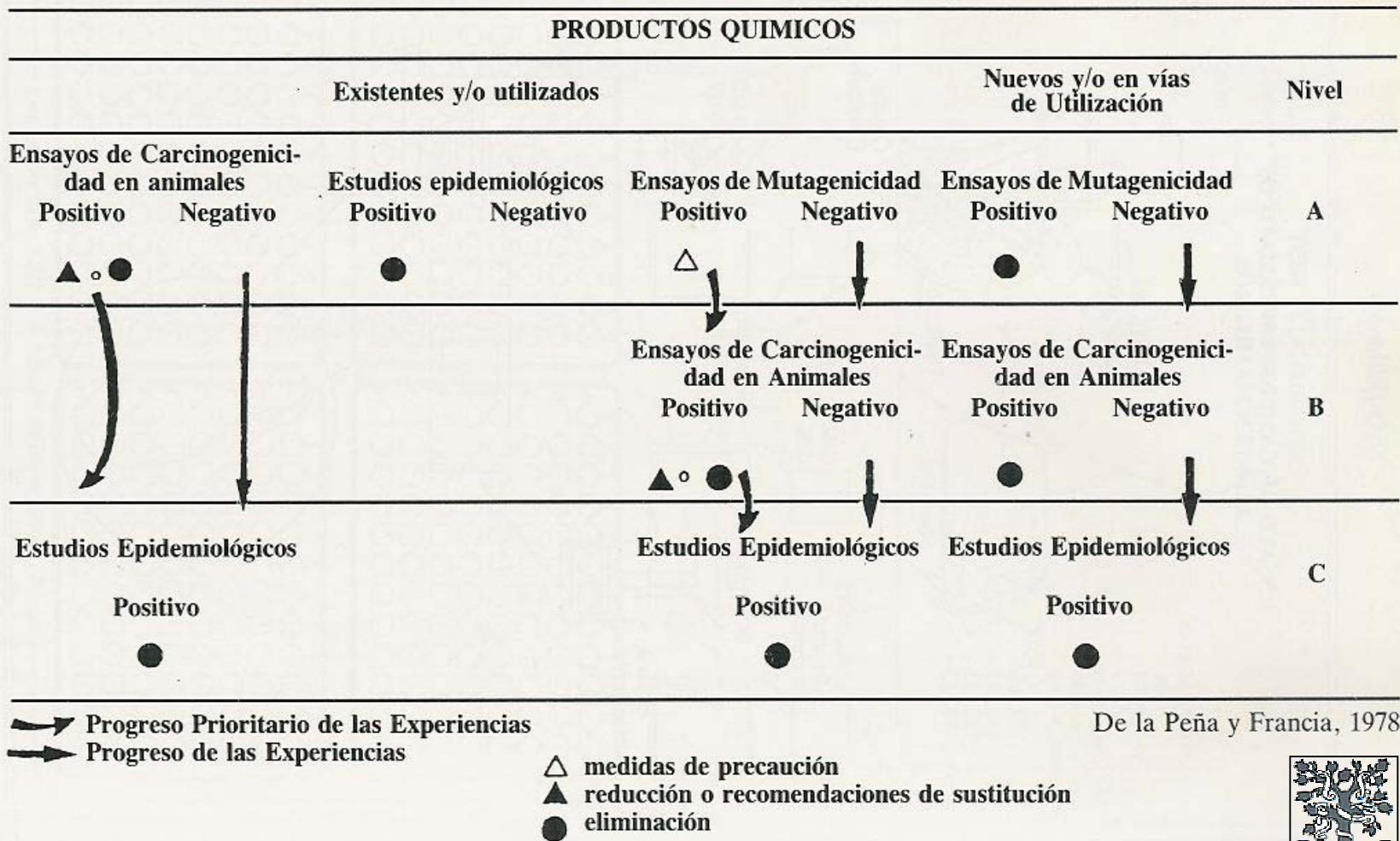
5.9.2. Toxicidad para el desarrollo

5.10. Otros efectos

5.11. Obtención del o de los DNEL

## PARTE B

FIGURA 6. MEDIDAS A CONSIDERAR DE ACUERDO CON LAS EVIDENCIAS DEL RIESGO CARCINOGENICO DE LOS PRODUCTOS QUIMICOS PARA EL HOMBRE



De la Peña y Francia, 1978



FIGURA 4

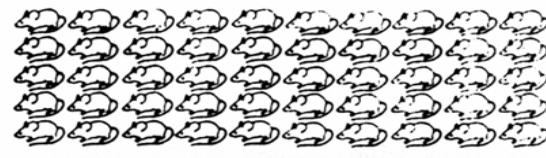
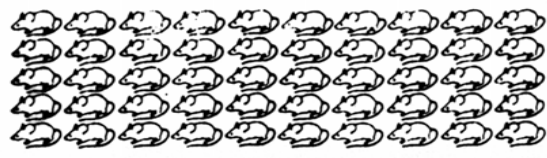
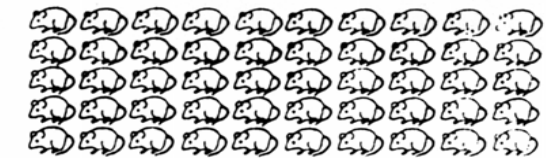
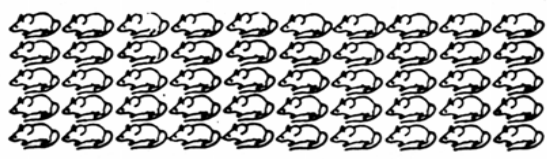
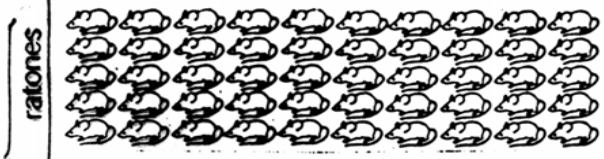
# Diseño estándar para ensayo de carcinogénesis química con animales



Dosis máxima tolerada

Dosis media

Control



200 animales

200 animales

200 animales

Date .....



Name of substance, synonyms, trade names CAS Reg. No. (9th ed.)	Purity of Substance	Use Category	Species & Strain	Sex & No. of animals per treated & control groups



Route of exposure	a) Dose, vehicle, frequency of application b) Controls: negative, positive & vehicle	Starting date & expected duration	Stage of experiment	Principal Investigator (s)



Table 3.1 Summary of selected recent guidelines on experimental design for carcinogenicity bioassays

Source	No. of dose levels (excluding untreated controls)	No. of animals of each sex per dose	High dose	Low dose	Intermediate doses
EPA <sup>a</sup> (1979)	3+	50	Induces slight toxicity but no substantial reduction in longevity due to effects other than tumours	Less than $\frac{1}{2}$ of intermediate doses but not less than $\frac{1}{10}$ of high dose	$\frac{1}{4}$ to $\frac{1}{2}$ of high dose
IRLG <sup>b</sup> (1979)	2+	No. of animals required to provide adequate assurance of safety if the test failed to detect carcinogenicity	Can be administered for the lifetime of the test animal and not (i) produce clinical signs of toxicity or pathological lesions other than those related to a neoplastic response, (ii) alter the normal longevity of the animals from toxic effects other than carcinogenesis, and (iii) appreciably inhibit normal weight gain		
IARC <sup>c</sup> (1980)	2	50	Elicits some toxicity when administered for the duration of the test period, but does not induce (i) overt toxicity, (ii) toxic manifestations which are predicted materially to reduce the life span of the animals except as the result of neoplastic development, or (iii) 10% or greater retardation of body weight gain as compared with control animals	$\frac{1}{4}$ or $\frac{1}{2}$ of high dose	
OECD <sup>d</sup> (1981)	3	50	Elicits signs of toxicity without substantially altering the normal lifespan due to effects other than tumours. For diet mixtures, the ingested concentration should not exceed 5%	Should not interfere with normal growth, development or longevity of the animal or result in any indication of toxicity. In general, not less than 10% of high dose	Mid-range between high and low doses depending upon the toxicokinetics of the chemical!

<sup>a</sup> Environmental Protection Agency

<sup>b</sup> Interagency Regulatory Liaison Group

<sup>c</sup> International Agency for Research on Cancer

<sup>d</sup> Organization for Economic and Cooperative Development



Country: **SPAIN**

City: **6 Madrid**

Name and address of Institute: **Department of Plant Protection, Laboratory of Toxicology,  
Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Serrano 115 dpdo**

Name of Substance	Use Category	Species (Strain) No. of Animals	Exposure Route Dose Levels	Stage of Experiments	Principal Investigator(s)
<b>Saccharin sodium</b> (CAS Reg. No. 128-44-9) 1,2-Benzisothiazolin-3-one-1,1-dioxide sodium salt ; Dagutan ; Kristalloce ; Saccharin soluble	8, 11	Mouse (NMRI) M:14; F:14	p.o. in the diet 800 mg/kg	completed	Laborda, E.
		Control M:10; F:10	basal diet		
		Mouse (NMRI) M:13; F:13	p.o. in drinking water 500 mg/kg	completed	Laborda, E.
		Control M:10; F:10	water		
<b>1,1,1-Trichloro-2,2-bis(p- chlorophenyl)ethane</b> (CAS Reg. No. 50-29-3) DDT technical grade ; Gezarol ; Neocid	7	Mouse (NMRI) M:34; F:33	p.o. in the diet 50; 100; 200 mg/kg in olive oil	completed in press	Laborda, E. de la Peña, E.
		Control M:30; F:32	olive oil		

Name of Substance	Use Category	Species(Strain) No. of Animals	Exposure Route Dose Levels and Purity	Starting Date and Stage of Experiments	Principal Investigator(s)
<i>CONT'D</i>					
		Mouse (B6C3F <sub>1</sub> ) M:60; F:60	p.o. 750; 1500; 3000 mg/kg diet (ppm) for 104 wks	Mar 1989 completed paper in preparation	Dunnick, J.K.
		Control M:60; F:60	untreated		
<b>Cresol</b> [mixed isomers] (CAS Reg. No. 1319-77-3) Methylphenol	1, 2, 3, 11	Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. in the diet	chronic planned	Chhabra, R.S.
<b>Cyclohexanone oxime</b> (CAS Reg. No. 100-64-1) (Hydroxyimino)cyclohexane; Antioxidant D	2, 3	Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. in drinking water	prechronic completed paper in preparation	Burka, L.
<b>Cyclohexene oxide</b> (CAS Reg. No. 286-20-4)	1	Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	skin appl.	prechronic in progress	Cunningham, M.
		Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. by gavage	prechronic in progress	Cunningham, M.
<b>2,4-D</b> (CAS Reg. No. 94-75-7) 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid; Dichlorophenoxyacetic acid; Red Devil Dry Weed Killer; Weedone 638; Weed-Rhap A-4	2, 7	Rat (Sprague- Dawley);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> );Hams- ter (Syrian Golden)	p.o. in the diet	May 1994 prechronic in progress	Vallant, M.
<b>D and C Yellow No. 11</b> (CAS Reg. No. 8003-22-3) C.I. Solvent Yellow 33; C.I. 47000; Oil Yellow SIS; Quinoline Yellow A Spirit Soluble; Quinoline Yellow Base; Solvent Yellow 33; Waxoline Yellow T	4	Rat (Fischer 344) M:60; F:60	p.o. 500; 1700; 5000 mg/kg diet (ppm)	Apr 1990 completed paper in preparation	Eastin, W.C.
		Control M:60; F:60	untreated		
<b>2,4-Decadienal</b> (CAS Reg. No. 25152-84-5)	8	Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. by gavage	prechronic in progress	Chan, P.C.
<b>Decalin</b> (CAS Reg. No. 91-17-8) Decahydronaphthalene; Naphthane	6	Rat (Fischer 344);Rat (NBR);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	inhal.	prechronic planned	Chan, P.C.
<b>1,2-Dichloro-1,1-difluoroethane</b> (CAS Reg. No. 1649-08-7) 1,1-Difluoro-1,2-dichloroethane; 1,2- Dichloro-2,2-difluoroethane; Fron 132b; HCFC 132b	1	Rat (Fischer 344)	p.o. by gavage	prechronic completed paper in preparation	Bucher, J.R.
<b>p-p'-Dichlorodiphenyl sulfone</b> (CAS Reg. No. 80-07-9)	3	Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. in the diet	prechronic completed	Matthews, H.B.
		Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. in the diet	Dec 1995 chronic planned	Matthews, H.B.

# **ESTUDIOS DE CARCINOGENESIS**

**Directiva 87/302/CEE - DOCE L133 (30.5.88)**

**Número de Animales y Sexo**

**Dosis y frecuencias de exposición**

**Controles**

**Vias de administración**

**Duración del estudio**

**Procedimiento**

---

**IARC Directory of Agents Being Tested for Carcinogenicity  
Number 16. IARC/WHO. Lyon 1994**

Compañía _____ (1)	<b>III. E. 110</b>	(4)
Nombre Especialidad F. _____ (2)		
Principio Activo _____ (3)		
(5) / (5) pág. núm.		

**POTENCIAL ONCO/CARCINOGENICO Datos del estudio**

Ref. Documento: Volumen (6) Pág. (6) a (6) Addendum N° (7)  
 Fecha Informe: (8) Número: (9) Período Estudio (Años) (10) - (10)

Especies/cepas:

Nº de animales: (11) Duración del estudio: (12) / (12)

Vía de administración: (13)

Tratamiento de controles: (14)  
 Edad: al inicio del estudio  
 Peso corporal: (15)  
 Días de tratamiento por semana:

Combinado con estudio de toxicidad crónica? Sí (16) No (16)  
 Si es «sí», en III.B.210, pág. (17)

Grupo de estudio (18)	(1) Control	(2)	(3)	(4)
-----------------------	----------------	-----	-----	-----

Dosis < (15) >	0	(20)		
----------------	---	------	--	--

Sexo (m/h)	m	h	m	h	m	h	m	h
------------	---	---	---	---	---	---	---	---

Número total animales	al inicio del estudio							
	evaluados (21)							

Necropsia prematura	calendario sacrificio							
	muertos sacrif. in extremis	totales						
		eval.:	(21)					

Sacrificio a término

Datos complementarios:

(22)

Estudio histológico conforme Guía Comunitaria Sí (16) No (16)  
 Estudio realizado por el Solicitante: Sí (16) No (16)  
 Si es «no», indicar el nombre y la dirección del Instituto que los realizó:

Estudio realizado según las GLP: Sí (16) No (16) no necesario (16)  
 Pág. (23)

Compañía _____ (1)	<b>III. E. 210</b>	(4)
Nombre Especialidad F. _____ (2)		
Principio Activo _____ (3)		
(5) / (5) pág. núm.		

**POTENCIAL ONCO/CARCINOGENICO Tumores**

Ref. Documento: Volumen (6) Pág. (6) a (6) Addendum N° (7)  
 Fecha Informe: (8) Número: (9) Período Estudio (Años) (10) - (10)

Número de tumores en todos los animales que fueron evaluados (sin considerar causas y relevancia)	Frecuencia según dosis y sexo (n)			
	(1) Control	(2)	(3)	(4)

Evaluación biométrica Sí (11) No (11)

Número de animales evaluados

Organo	Identificación del tumor	(14)						
--------	--------------------------	------	--	--	--	--	--	--

(17)	(13)	(14)						
------	------	------	--	--	--	--	--	--

\* p < 0.05

Pág. (15)



WORLD HEALTH ORGANIZATION

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER

**IARC MONOGRAPHS**  
ON THE  
**EVALUATION OF CARCINOGENIC**  
**RISKS TO HUMANS**

**Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating**  
*of IARC Monographs Volumes 1 to 42*

*SUPPLEMENT 7*

LYON, FRANCE

1987



WORLD HEALTH ORGANIZATION  
ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER  
CENTRE INTERNATIONAL DE RECHERCHE SUR LE CANCER

1929/5 82

**DIRECTORY OF AGENTS**  
**BEING TESTED FOR CARCINOGENICITY**

NUMBER 16

IARC, Lyon  
June 1994

**Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de los Productos Químicos REACH**  
Curso de Verano. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares. 1 – 4 de julio de 2008

## **TABLA 10. PARTES DE UNA MONOGRAFIA DEL IARC DE UN PRODUCTO QUIMICO. IARC (1971-2007)**

- **Sección 1**  
**DATOS FISICO-QUIMICOS**
- **Sección 2**  
**PRODUCCION, USO, PRESENCIA y ANALISIS**
- **Sección 3**  
**DATOS BIOLÓGICOS RELEVANTES PARA LA EVALUACIÓN DEL RIESGO CANCERÍGENO**
  - a. Carcinogenicidad en animales;
  - b. Toxicidad prenatal
  - c. Mutagenicidad/otros ensayos y c. Estudios epidemiológicos
- **Sección 4**  
**RESUMEN y EVALUACION DE LOS DATOS REPORTADOS**
  - a. Datos experimentales;
  - b. Datos Humanos
  - c. Evaluación ( Grupo de Trabajo *ad hoc*)

# Evaluación del Riesgo Cancerígeno de los Productos Químicos para el Hombre *IARC*

- **Grupo 1.** Cancerígenos para el Hombre
- **Grupo 2A.** Probablemente Cancerígenos para el Hombre
- **Grupo 2B.** Posiblemente Cancerígeno para el Hombre
- **Grupo 3.** Los datos existente no permiten clasificarlos como cancerígenos para el Hombre
- **Grupo 4.** Probablemente no cancerígenos para el Hombre

*IARC Monographs 1971-2007 último volumen:88/2007*

*http://193.51.164*



## Harmonization of nomenclature and diagnostic criteria in carcinogenicity studies

In 1988 the computerized pathology data base RITA (=Registry of Industrial Toxicology Animal-data) was set up in Germany

Diagnostic criteria of proliferative lesions in **Rat and Mouse** have been published:

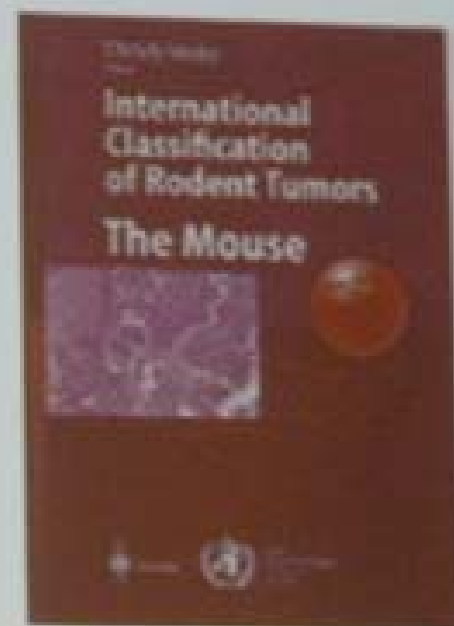
„International Classification of Rodent Tumours, Part I: The Rat“ (IARC Scientific Publications)



## Harmonization of nomenclature and diagnostic criteria in carcinogenicity studies

The corresponding publication on lesions in the mouse has been prepared in a joint initiative between the RITA group and members of other societies of toxicologic pathology:

„International Classification of Rodent Tumours,  
The Mouse“ (Springer Press)



# Harmonization of nomenclature and diagnostic criteria in carcinogenicity studies



You have reached the new version of the RENI Web site which is currently available only for members of the RITA data base project. The new version offers for our members a lot of additional and useful information, in particular 6,416 additional high resolution images and current information in the "RITA Notes" area.



ICLAS/CSIC Working Group  
on Complementary Methods

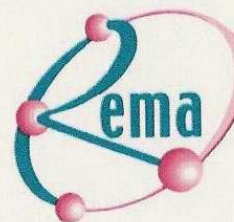
Grupo de Trabajo de ICLAS/CSIC  
sobre Métodos Complementarios

CSIC  
ICLAS

Editor-in-Chief:  
Eduardo de la Peña

Co-Editors:  
Ana Guadaño, Carmen Barrueco,  
Guillermo Repetto, Francisco Glez. Menció  
& Paulino García Partida

**GTEMA**



## CURSO-TALLER DE REDUCCIÓN, REFINAMIENTO Y REEMPLAZO DE ANIMALES EN INVESTIGACIÓN, DESARROLLO Y DOCENCIA

*Curso-taller de orientación práctica destinado a miembros de comités éticos, responsables de animalarios e investigadores para facilitar la aplicación de los principios de las 3R en el cumplimiento de la nueva normativa sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.*

### Organiza:

- REMA- Red Española de Métodos Alternativos a la Experimentación Animal (<http://www.remanet.net/>)
- con la colaboración del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Autónoma de Madrid y el proyecto CONAM – ECOPA (<http://ecopa.vub.ac.be/>)

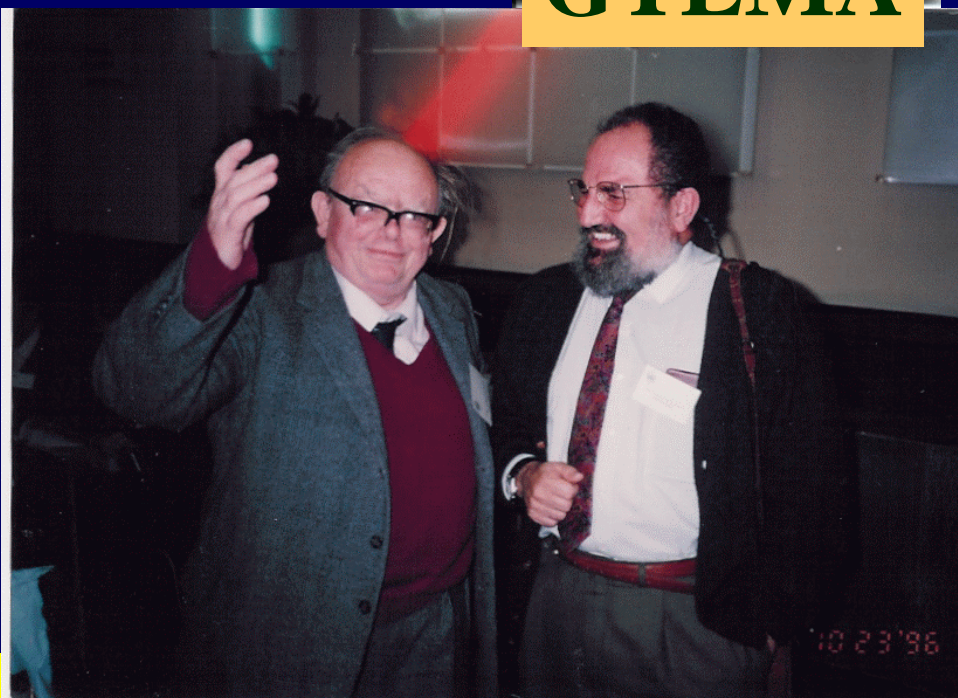
### Celebración:

Facultad de Medicina UAM  
Universidad Autónoma de Madrid  
c/ Arzobispo Morcillo s/n (junto al Hospital La Paz)  
28029 Madrid

23 de Noviembre de 2005: 09.00- 19.00 h

Plazas limitadas (40)

**3ERRES**



Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de los Productos Químicos REACH

Curso de Verano. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares. 1 – 4 de julio de 2008

# *Las tres erres de Russell & Burch, 1959*

## *1ª Reemplazar = Sustituir*

- Uso de sistemas vivos: *in vitro*, otros animales y microorganismos.
- Uso de Sistemas no vivos ( QSAR y sistemas físicos y mecánicos)
- Uso de simulaciones por ordenador

## *2ª Reducir = Disminuir*

- Reparto de animales
- Reducción filogenética
- Mejorar la calidad de los animales

## *3ª Refinar = Perfeccionar*

- Disminuir el grado y la intensidad de la invasión al organismo
- Mejoramiento de la instrumentación
- Mejoramiento del control del dolor
- Mejoramiento del control de las técnicas

4ª erre 4ª Responsabilidad = *Ética* (Pérez-García 1991. Murcia'91)



# SUSTANCIAS CARCINOGENICAS

## Primera categoría

Sustancias que, se sabe, son carcinogénicas para el hombre.

Se dispone de elementos suficientes para establecer la existencia de una relación causa/efecto entre la exposición del hombre a tales sustancias y la aparición del cáncer.

### Frases de riesgo

T; R 45 Puede causar cáncer

T; R 49 Puede causar cáncer por inhalación

### Observaciones

Las sustancias se clasifican dentro de la primera categoría a partir de datos epidemiológicos.



# SUSTANCIAS CARCINOGENICAS

## Segunda Categoría

Sustancias que pueden considerarse como carcinogénicas para el hombre. Se dispone de elementos suficientes para suponer que la la exposición del hombre a tales sustancias puede producir cáncer. Dicha presunción se fundamenta generalmente en:

- 1) estudios apropiados a largo plazo, y
- 2) otro tipo de información pertinente

**Frases de riesgo: T; R 45 Puede causar cáncer**

Observaciones: Para que la sustancia se clasifique en la segunda categoría, "carcinógena", será necesario obtener resultados positivos en dos especies animales, o pruebas positivas contundentes en una especie, junto con pruebas complementarias, tales como **datos de genotoxicidad**, estudios metabólicos obioquímicos, **inducción de tumores benignos**, relación estructural con otras sustancias carcinogénicas conocidas, o **datos de estudios epidemiológicos** que sugieran una relación.



# SUSTANCIAS CARCINOGENICAS

## Tercera Categoría

Sustancias cuyos posibles efectos carcinogénicos en el hombre son preocupantes, pero de las que no se dispone de información suficiente para realizar una evaluación satisfactoria. Hay algunas pruebas procedentes de análisis con animales, pero que resultan insuficientes para incluirlas en la segunda categoría.

**Frases de riesgo: Xn; R 40 Riesgo de efectos irreversibles**

**Observaciones:** La tercera categoría comprende dos subcategorías:

- a) Sustancias sobre las que se ha investigado pero de las que no hay suficientes pruebas sobre la **inducción de tumores** para incluirlas en la segunda categoría, y no es probable que con más experimentos se pueda obtener la información necesaria para su clasificación.
- b) Sustancias sobre las que no se ha investigado bastante. Los datos disponibles son inadecuados, pero preocupantes en relación con el hombre. La clasificación es provisional y se requieren más experimentos antes de adoptar una decisión definitiva.



# Criterios UE versus SGA - Clasificación de sustancias peligrosas

## 11. Carcinogenicidad

UE	Cat. 1 T R45 y R49	Cat. 2 T R45 y R49	Cat. 3 Xn R40
<b>Criterios</b>	Datos de estudios epidemiológicos en humanos que apoyan una relación causal.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Datos positivos en dos especies animales.</li> <li>2. Datos positivos en una especie animal, junto con pruebas complementarias (datos de genotoxicidad, estudios metabólicos o bioquímicos, inducción de tumores benignos, relación estructural con otras sustancias carcinogénicas conocidas).</li> <li>3. Datos de estudios epidemiológicos que sugieran una relación.</li> </ol>	Datos positivos, procedentes de ensayos con animales, que son insuficientes para incluir la sustancia en la categoría 2.
	La R49 se aplica a las sustancias que pueden causar cáncer por inhalación		
SGA	Categoría 1A	Categoría 1B	Categoría 2
<b>Criterios</b>	Datos de estudios epidemiológicos en humanos que apoyan una relación causal.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Datos, procedentes de estudios con animales, suficientemente convincentes.</li> <li>2. La existencia de datos limitados, para el hombre y los animales, podría justificar la clasificación de una sustancia en esta categoría.</li> </ol>	Sólo existen datos limitados, o para el hombre o para los animales.

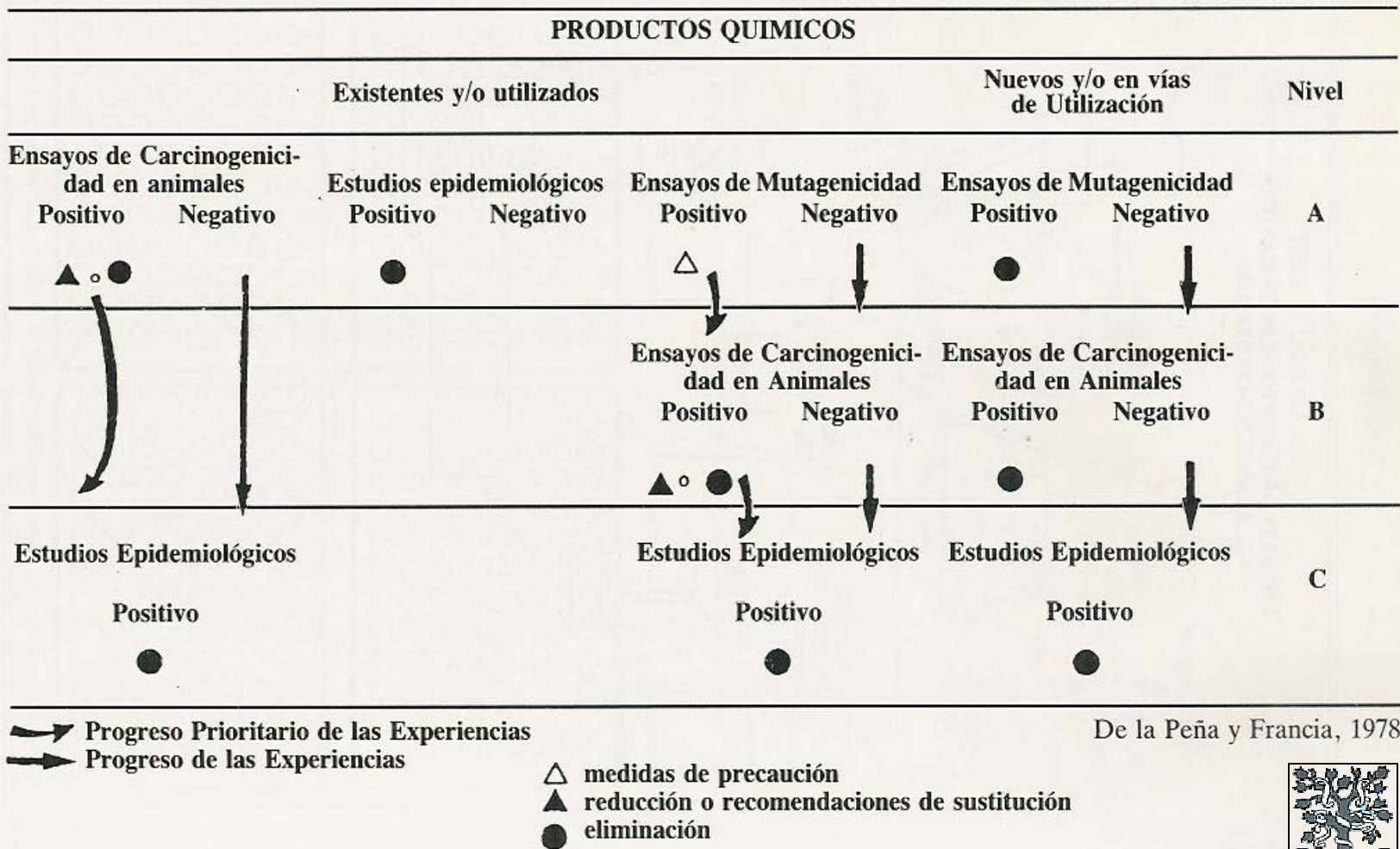
## CLASIFICACIÓN SEGÚN LOS EFECTOS ESPECÍFICOS SOBRE LA SALUD

CATEGORÍA DE PELIGRO	FRASES R ASOCIADAS	INDICACIÓN DE PELIGRO	SÍMBOLO	DEFINICIÓN GENERAL
<b>Carcinógeno</b>				
Categorías 1 y 2	R45, R49	Tóxico		<b>Carcinógenos:</b> las sustancias y preparados que por inhalación, ingestión o penetración cutánea pueden producir cáncer o aumentar su frecuencia.
Categoría 3	R40	Nocivo		
<b>Mutágeno</b>				
Categorías 1 y 2	R46	Tóxico		<b>Mutágenos:</b> las sustancias y preparados que por inhalación, ingestión o penetración cutánea pueden producir defectos genéticos hereditarios o aumentar su frecuencia.
Categoría 3	R68	Nocivo		
<b>Tóxico para la reproducción</b>				
Categorías 1 y 2	R60, R61	Tóxico		<b>Tóxicos para la reproducción:</b> las sustancias y preparados que por inhalación, ingestión o penetración cutánea pueden producir efectos nocivos no hereditarios en la descendencia, o aumentar la frecuencia de éstos, o afectar de forma negativa a la función o a la capacidad reproductora masculina o femenina.
Categoría 3	R62, R63	Nocivo		

## CLASIFICACIÓN SEGÚN LOS EFECTOS SOBRE EL MEDIO AMBIENTE

<b>Peligroso para el medio ambiente</b>	Medio ambiente acuático: R50, R50/53, R51/53 R52, R52/53, R53	<b>Peligroso para el medio ambiente</b>		<b>Peligrosos para el medio ambiente:</b> las sustancias y preparados que, en caso de contacto con el medio ambiente, constituirían o podrían constituir un peligro inmediato o futuro para uno o más componentes del medio ambiente.
	Medio ambiente no acuático: R54, R55, R56, R57, R58			
	Capa de ozono: R59			


FIGURA 6. MEDIDAS A CONSIDERAR DE ACUERDO CON LAS EVIDENCIAS DEL RIESGO CARCINOGENICO DE LOS PRODUCTOS QUIMICOS PARA EL HOMBRE



De la Peña y Francia, 1978



# Clasificación de las sustancias, respecto a su carcinogenicidad en el hombre, según diferentes instituciones

	Carcinógenas	Probables Carcinógenas	Posibles Carcinógenas	No clasificadas	Probables no carcinógenas	
<b>IARC</b>	<p><b><u>Grupo 1</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Suficiente hombre</li> <li>Limitada hombre/suficiente animales/mecanismo relevante para el hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo 2A</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Limitada hombre/suficiente animales</li> <li>Inadecuada hombre/suficiente animales/ mecanismo relevante para el hombre</li> <li>Limitada hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo 2B</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Limitada hombre/limitada animales</li> <li>Inadecuada hombre/suficiente animales</li> <li>Inadecuada hombre/limitada animales/datos de apoyo</li> </ul>	<p><b><u>Grupo 3</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Inadecuada hombre/inadecuada animales</li> <li>Inadecuada hombre/limitada animales</li> <li>Inadecuada hombre/suficiente animales/ mecanismo no relevante para el hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo 4</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de carcinogenicidad sugerida en hombre y animales</li> <li>Inadecuada hombre/ausencia de carcinogenicidad sugerida en animales/datos de apoyo</li> </ul>	
<b>ACGIH</b>	<p><b><u>Grupo A1</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Suficiente hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo A2</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Limitada hombre/suficiente animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo A3</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de carcinogenicidad sugerida en hombre/suficiente animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo A4</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Inadecuada hombre/inadecuada animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo A5</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de carcinogenicidad sugerida en hombre</li> </ul>	
<b>EPA</b>	<p><b><u>Grupo A</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Suficiente hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo B1</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Limitada hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo B2</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Inadecuada hombre/suficiente animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo C</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Inadecuada hombre/limitada animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo D</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Inadecuada hombre/inadecuada animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo E</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de carcinogenicidad sugerida en hombre y animales</li> <li>Ausencia de carcinogenicidad sugerida en animales</li> </ul>
<b>MAK</b>	<p><b><u>Grupo A1</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Suficiente hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo A2</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Suficiente animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo B</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Existen datos de algunos estudios que necesitan urgentemente mayor investigación</li> </ul>			

**JORNADAS TOXICOLOGÍA AMBIENTAL**



Preparándose para el REACH,  
desde el 1 de junio 2007  
AETOX-SESA  
Del 10 al 12 diciembre 2007  
CEMACAM Torre Guil

ae tox AENA CSIC  
Región de Murcia  
Comunidad de Santomera  
MUNICIPIO DE SANTOMERA  
Florencia  
CEMACAM  
Torre Guil  
OBRAS SOCIALES



**Preparándose para el REACH desde el 1 de junio de 2007**  
**CEMACAM. Torre Guil Santomera la Verde (Murcia) 10-12 diciembre 2007**



Preparándose para el REACH,  
desde el 1 de junio 2007  
AETOX-SESA

Del 10 al 12 diciembre 2007  
**CEMACAM Torre Guil**



Región de Murcia  
Consejería de Sanidad



**CEMACAM**  
Torre Guil  
CENTRO EDUCATIVO  
DEL MEDIO AMBIENTE  
Torre Guil - Murcia



**CAM**

Caja Mediterráneo

OBRAS SOCIALES

2. **Dra. Covadonga CABALLO DIEGUEZ**  
Departamento de Biocidas y Productos Químicos  
Subdirección Gral. de Sanidad Ambiental y Salud Laboral.  
Ministerio de Sanidad y Consumo.
3. **Dra. Matilde CARBALLO SANTAOLAYA**  
INIA. Centro de Investigación de Sanidad Animal
4. **Profa. Dra. Guillermina FONT PÉREZ**  
Presidenta de AETOX. Catedrática de Toxicología.  
Facultad de Farmacia Universidad de Valencia
5. **Master. Óscar HERRERO FELIPE**  
CSIC. Centro de Ciencias Medioambientales
6. **Dra. Esther MARTÍN de DIOS**  
Subdirección Gral. de Sanidad Ambiental y Salud Laboral.  
Ministerio de Sanidad y Consumo
7. **Dr. José Vicente MARTÍ BOSCA**  
Presidente de SESA. Unidad de Sanidad Ambiental.  
Dirección General de Salud Pública
8. **Prof. Dr. Nicolás OLEA SERRANO**  
CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP).  
Hospital Clínico. Universidad de Granada
9. **Dr. Guillermo REPETTO KUHN**  
Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses  
Coordinador de BUSCATOX (Sevilla)
10. **Prof. Dr. Eugenio VILANOVA GISBERT**  
Director del Instituto de Bioingeniería. Catedrático de  
Toxicología. Universidad Miguel Hernández. Elche
11. **Dra. Elisa GÓMEZ CAMPOY**  
Sanidad Ambiental. Consejería de Sanidad.  
Comunidad Autónoma de Murcia
12. **Dr. Eduardo de la PEÑA de TORRES**  
CSIC. Centro de Ciencias Medioambientales

# *Grupo de Mutagenesis Ambiental*

Centro de Ciencias Medioambientales

Consejo Superior de Investigaciones Científicas



**Evaluación genotóxica de productos químicos naturales y sintéticos, mediante ensayos de corta duración utilizando sistemas bacterianos (*Salmonella typhimurium*) y/o cultivos *in vitro* e *in vivo* de células de mamífero (linfocitos, CHO).**

**Ensayos *in vitro* e *in vivo* integrados en el desarrollo y validación de métodos complementarios alternativos a la experimentación animal.**

*Dr. Eduardo de la Peña de Torres (4)*

*Da. Antonia Martínez López (2)*

*Ms. Óscar Herrero Felipe (1)*

*Lda Araceli Pillco Tito (3)*

C/ Serrano 115 dpdo 28006 Madrid

Tlno. 91-7452500 ext. 219

- [epena@ccma.csic.es](mailto:epena@ccma.csic.es)

- [mutagenesisambiental@ccma.csic.es](mailto:mutagenesisambiental@ccma.csic.es)



# BÚSQUEDA DE DATOS TOXICOLÓGICOS EN CD-ROM Y EN BASES DE DATOS ON-LINE EN INTERNET. IMPLICACIONES EN EL REACH

Guillermo Repetto, Ana del Peso

Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Sevilla.  
guillermo@grepetto.com

El reciente cambio legislativo con la implantación del sistema REACH exige el mejor aprovechamiento posible de los escasos datos disponibles de los compuestos, pero además

“Los ciudadanos de la UE deben tener **acceso a la información** sobre las sustancias y preparados químicos a los que puedan estar expuestos, de manera que puedan, con conocimiento de causa, tomar decisiones sobre el uso que hagan de las sustancias y preparados químicos. Una es concederles un acceso básico almacenados en la entre los que se incluya una propiedades peligrosas, los legislación comunitaria autorizados y las medidas que la Agencia y los acceso a la información relativa al medio ambiente de conformidad con las disposiciones de la Directiva 2003/4/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2003, relativa al acceso del público a la información medioambiental (1), del Reglamento (CE) no 1049/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de mayo de 2001, relativo al acceso del público a los documentos del Parlamento Europeo, del Consejo y de la Comisión (2), y del Convenio CEPE/ONU sobre el acceso a la información, la **participación pública en la adopción de decisiones** y el acceso a la justicia en materia de medio ambiente, del que la Comunidad Europea es parte” (Consid 117, Reglamento 1907/2006, REACH).



**BUSCA-TOX.com** Encuentra información Toxicológica y ambiental

[Http://busca-tox.com](http://busca-tox.com)  
¡Sigue este módulo, .... y si ya lo dominas, usa el buscador!

**REACH**  
La nueva legislación de sustancias y preparados

**BUSCA-TOX.com**  
Encuentra información Toxicológica y Ambiental

(Se permite la inclusión del logo con su enlace en otras páginas)

**La Búsqueda de Información Toxicológica: Modulo Practico de Aprendizaje con el buscador - Busca-tox.com V 8.2**

- ◆ 1.- Objetivos
- ◆ 2.- Disponibilidad de la Información Toxicológica
- ◆ 3.- ¿Dónde está la información toxicológica?
- ◆ 4.- ¿Cómo se localiza la información toxicológica?
- ◆ 5.- Módulo práctico de aprendizaje
- ◆ 6.- Guía rápida

**MasterTox**

\*: Con información en español. 2001-2008

39.000 Visitas último año

Recomienda la página a

<http://busca-tox.com>

**Página inicio**  
Guía rápida  
Uso de Usuarios  
Enseñanza  
Mastertox  
Teleformación  
RevistasTox  
Bibliotoxi  
Noticias  
Alternativas  
AgendaTox

Visitor locations



Los profesionales de las áreas sanitarias y medioambientales precisan tomar frecuentemente decisiones sobre evaluación de riesgos químicos. Para ello necesitan disponer de acceso a bases de datos toxicológicas y ser capaces de manejar eficientemente las herramientas que ponen a su alcance estos recursos para localizar la información suficiente y relevante que les permita gestionar adecuadamente los posibles riesgos. El reciente cambio legislativo con la implantación del sistema REACH exige el mejor aprovechamiento posible de los escasos datos disponibles de los compuestos.

## EXISTENCIA Y DISPONIBILIDAD DE LA INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

La situación de falta de datos sobre los compuestos químicos a los que estamos expuestos a diario es realmente preocupante. Por ello, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (**OCDE**) inició en 1990 un programa para evaluar los Compuestos de alta producción o HPV, producidos en más de 1000 Tm / año / en al menos 1 país miembro de la OCDE (unos 4000). Realmente no se trata de obtener una información completa para la evaluación del riesgo, sino sólo de la información básica (Screening Information Data Sets (SIDS)) necesaria para poder priorizar acciones. El ritmo de evaluación ha sido tan lento, que se ha llegado a un nuevo acuerdo 1999-2004 para evaluar 1000 compuestos (OCDE, EU, CEFIC, ICCA).

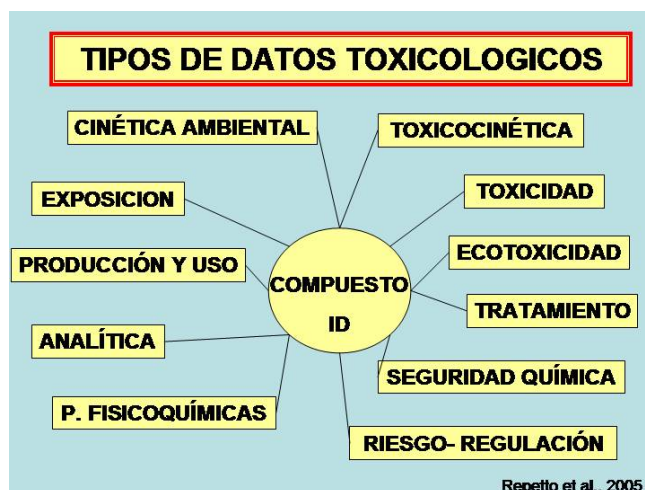
En **Norteamérica** en 1998 se llegó a la conclusión de que *“No existe información públicamente disponible de los efectos básicos sobre la salud de la mayoría de los compuestos industriales, es decir, existe una ignorancia tóxica ”* (EDF 1997). De hecho, el 93% de los HPV carece de datos SIDS disponibles públicamente; y el 43% no tiene SIDS (EPA 1998). Por ello se puso en marcha el programa HPV Challenge (1998). Se trata de un acuerdo entre la Administración US, Environmental Protection Agency, Chemical Manufacturers Association, Environment Defense Fund y otras entidades. El objetivo consiste en ensayar 2.800 compuestos HPV en el periodo 1998 - 2004. Los costes son sufragados por la industria y ascienden a 500-700 millones US\$, con el consumo previsto de más de 750.000 animales.

Por lo tanto, la situación es preocupante puesto que se conoce muy poco de los efectos adversos de los compuestos. Se han descrito más de 12 millones de sustancias. Sin embargo, la mayoría de ellas no se comercializan, por lo que es muy poco probable que entren en contacto con el ser humano y el medio ambiente, y suponiendo por ello poco riesgo.

Aunque puede argumentarse que los compuestos que llevan muchos años utilizándose no debieran ser especialmente perniciosos puesto que *“parecen no haber causado daños importantes”*, desde el punto de vista toxicológico y de salud ambiental preocupa una exposición a peligros que no han sido cuantificados.

En comparación con USA y Japón, la **Unión Europea** es la mayor productora de compuestos químicos en el mundo. Más de 100.000 compuestos químicos están comercializados actualmente, y una media de 2.000 nuevos se introducen cada año en el mercado, incluyendo compuestos industriales, plaguicidas, aditivos alimentarios, compuestos farmacéuticos, detergentes y cosméticos. Además hemos de tener en cuenta su liberación al medio ambiente como desechos o subproductos. Ello motiva

una gran preocupación acerca de los efectos que esos compuestos puedan provocar en los humanos y el medio ambiente.



En la Unión Europea los compuestos industriales se clasifican en existentes y nuevos. Los productos químicos **existentes** son aquellos comercializados en la Comunidad antes de 1981. En el **Inventario Europeo de Sustancias Existentes (EINECS)** realizado en 1981 figuran 100.106 sustancias. De ellas,

- más de 2500 son producidas en gran cantidad, es decir, más de 1000 Tm / año, lo que representa el 90% de los productos químicos comercializados (HPV- High Production Volume)
- de 75.000 no hay información o hay pocos datos
- de 25.000 hay datos limitados
- existen unas 120 que se consideran sustancias prioritarias para investigar

Los productos químicos **nuevos** se evalúan antes de su comercialización en el mercado comunitario, siendo incluidos en la **Lista Europea de Nuevas Sustancias Químicas (ELINCS)**, que no incluye plaguicidas, materiales radioactivos, residuos, y sustancias empleadas en investigación científica. Desde 1981 se han presentado una 4000 notificaciones correspondientes a 2000 nuevas sustancias, lo que equivale a unas 400 por año.

Las sustancias existentes se incluyen en **IUCLID: Base de Datos Uniforme Internacional de Información Química**, que es utilizada por la Comisión para almacenar y difundir la información recabada con arreglo al Reglamento (CEE) nº 793/93, y que también ha sido adoptada por la OCDE.

## ACCESO A LA INFORMACIÓN

Antes de 1990 el acceso a la información toxicológica estaba muy limitado, quedando ésta concentrada en algunas bases de datos privadas u oficiales o comerciales, o directamente en revistas y directorios de resúmenes de publicaciones. A partir de entonces gran parte de la información pasa a ser compartida. Comienza la disponibilidad a través de Internet en diversas bases de datos de gran interés, ya que sus propietarios permiten su difusión.

A partir del año 2000 se empieza a generalizar el acceso a textos completos, incluyendo los artículos de revistas, habiendo surgido en la actualidad el debate

acerca de la necesidad de la libre disposición de los mismos.



## SELECCIÓN DE LAS BASES DE DATOS

Los datos fundamentales utilizados en toxicología incluyen la identificación de la sustancia, sus propiedades fisicoquímicas, producción y localización de los fabricantes, procedimientos analíticos, medidas de seguridad ocupacionales y de manipulación y transporte, emergencia, tratamiento de intoxicaciones, cinética y exposición ambiental, biorremediación, toxicidad y cinética en diferentes organismos, e información de normas reguladoras.

Esta información se encuentra en una gran cantidad de bases disponibles, por lo que los criterios más útiles para seleccionarlas debieran basarse en la relevancia de la información que contengan; la fidelidad de los mismos a los documentos originales; la objetividad en el tratamiento de los datos, separando la información de cualquier tipo de anuncios, y si es posible, citando la fuente original; la mayor cobertura posible; y la actualización periódica.

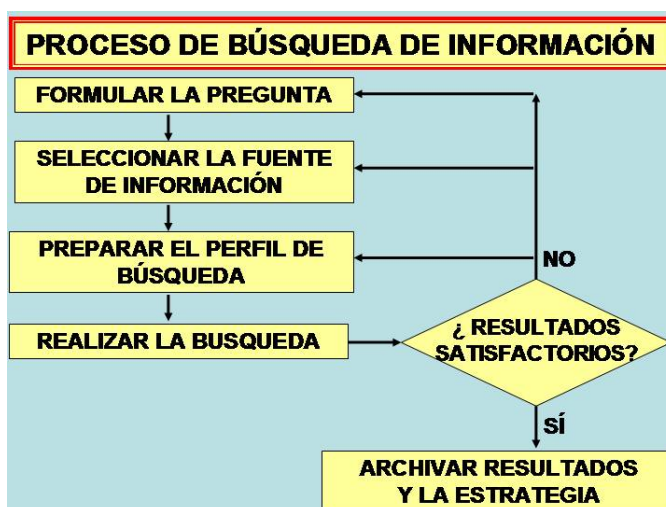
No pueden proporcionarse reglas generales para la selección de las bases de datos, ya que aunque disponemos algunas bases de datos muy completas, siempre suele existir alguna base de datos más específica que profundice más sobre el aspecto concreto que nos interese. Por ello, en principio es conveniente buscar la información en varias bases de datos, comenzando por una general, como la de HSDB, y después en algunas de la temática concreta que nos interese. Sin embargo, cada caso particular requiere una estrategia diferente.

Las bases de datos pueden ser de acceso gratuito, de acceso libre tras registro, o de pago. Según el formato pueden encontrarse en cd-rom para acceso desde sistemas convencionales o en agendas electrónicas (PDA, Notebook) o en Internet. En este caso, la propiedad del sistema debiera quedar clara, así como la autoría de los documentos. El respaldo de instituciones de prestigio supone un valor añadido de gran interés.

Existen muy diversas bases de datos **comerciales** de gran calidad, a las que puede accederse bien en formato cd-Rom, para PDA o en línea. La siguiente tabla no comprende una información exhaustiva, sino ejemplos de algunas de las más útiles. Además, algunas de ellas son conjuntos de bases de datos, lo que permite que puedan adquirirse solamente las que se consideren más apropiadas para el trabajo

que se realice.

Las bases de datos en **Internet** presentan una serie de ventajas que incluyen el acceso desde cualquier lugar, la inmediatez de la respuesta, la disponibilidad de la última versión de la información, fácilmente actualizada, y la gran variedad y amplitud de contenidos de la misma. Entre los principales inconvenientes figura que las direcciones de acceso son muy cambiantes, lo que obliga a comprobar continuamente su funcionamiento. La operatividad de los servidores y las limitaciones de las conexiones restringen actualmente el acceso a algunas direcciones, particularmente a determinadas horas del día. De igual modo, algunos navegadores resultan incompatibles para determinadas direcciones. El idioma puede suponer una limitación más, ya que la mayor parte de las bases de datos están en inglés.



En las búsquedas **en Internet**, atendiendo a la amplitud del campo de búsqueda, se utilizan buscadores generales, buscadores para compuestos químicos y buscadores especializados.

Los portales o **buscadores generales** (Google, Altavista, Yahoo, Excite, etc.) pueden ser útiles para encontrar documentos sobre diversos compuestos. Aunque no garantizan el éxito de la búsqueda ni la objetividad de la información, en ocasiones resultan interesantes por su capacidad de localizar documentos y páginas por gran parte de la red, aunque no revisan bases de datos específicas.



Los **buscadores para compuestos químicos**, particularmente ChemFinder o ChemIDplus, resultan de enorme interés ya que ofrecen un listado de bases de datos en las que puede encontrarse información concreta sobre el producto. ChemIDplus facilita la identificación inequívoca de 350.000 sustancias, incluyendo las estructuras de más de 56.000. TOXNET (Toxicology data network) es un conjunto de excelentes bases de datos gestionado por la Biblioteca Nacional de Medicina norteamericana que se está convirtiendo en el más completo accesible gratuitamente vía web.

Una opción más refinada consiste en realizar una búsqueda dirigida en **buscadores**

**especializados** enfocados al tipo de información precisada. Para ello es imprescindible disponer de un listado actualizado de las mejores bases de datos disponibles en cada momento.

Otra opción es acceder a ellas a través de BUSCATOX, para el que se ha realizado una selección de unas 60 direcciones de gran interés, escogidas de entre los más de 400 enlaces actuales con información toxicológica de calidad. BUSCATOX está disponible en la página del Área de Toxicología de la Universidad de Sevilla (<http://busca-tox.com/>)

En la tabla se incluye una selección de bases de datos agrupadas según diversas áreas. Como ejemplo de algunas de ellas, es conveniente citar al Sistema de Información Europeo sobre Sustancias Químicas (**ESIS**) que incluye bases de datos como EINECS, ELINCS y un extracto de IUCLID. Para aspectos medioambientales es muy útil **N-Class**.

**Selección de bases de datos toxicológicas comerciales. \*Versión gratuita en línea**

Base de datos individuales	Descripción	URL
IUCLID*	Base de Datos Uniforme Internacional de Información Química	<a href="http://ecb.jrc.it/iuclid/">http://ecb.jrc.it/iuclid/</a> Extracto en <a href="http://ecb.jrc.it/esis/">http://ecb.jrc.it/esis/</a>
EXTOXNET*	Plaguicidas	<a href="http://ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/ghindex.html">http://ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/ghindex.html</a>
HSDB*	Hazardous Subst Data Bank >4700	<a href="http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB">http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB</a>
TOMES Plus		<a href="http://www.micromedex.com">http://www.micromedex.com</a>
CESARS	Chemical Evaluation Search and Retrieval System	<a href="http://www.ccohs.ca/products/databases/cesars.html">http://www.ccohs.ca/products/databases/cesars.html</a>
DOSE		<a href="http://www.rsc.org/is/database/doseintroduction.cfm">http://www.rsc.org/is/database/doseintroduction.cfm</a>
IPCS-INCHEM*	International Programme on Chemical Safety	<a href="http://www.inchem.org/">http://www.inchem.org/</a>
RTECS	Registry of Toxic Effects of Chemical Substances >150000	<a href="http://www.nisc.com.mx/productos/qrtc.html">http://www.nisc.com.mx/productos/qrtc.html</a>
CCRIS	Chemical Carcinogenesis Research Information System	<a href="http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?CCRIS">http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?CCRIS</a>
OHMTADS	Oil and Hazardous Materials >1400	<a href="http://www.nisc.com/cis/details/ohm-tads.htm">http://www.nisc.com/cis/details/ohm-tads.htm</a>
Cheminfo		<a href="http://www.ccohs.ca/products/databases/cheminfo.html">http://www.ccohs.ca/products/databases/cheminfo.html</a>
Poisindex		<a href="http://www.micromedex.com">http://www.micromedex.com</a>
<b>Conjuntos de bases de datos</b>		
CYS	Chemical Information System > 36 bases de datos	<a href="http://www.nisc.com/cis">http://www.nisc.com/cis</a>
Micromedex	Poisindex, Tomes, etc	<a href="http://www.micromedex.com">http://www.micromedex.com</a>
CHEM-BANK	RTECS, HSDB, TSCA, etc	<a href="http://www.croner.co.uk/cgi-bin/croner/jsp/Mr_offer.do?contentId=1056&amp;channelId=-48363">http://www.croner.co.uk/cgi-bin/croner/jsp/Mr_offer.do?contentId=1056&amp;channelId=-48363</a>

conglomerado con varias de las mejores bases de datos toxicológicas, entre las que cabe destacar la base de datos de Sustancias Peligrosas **HSDB**. Esta es la base de datos sobre compuestos químicos más potente disponible en forma gratuita, y supera en capacidad a muchas comerciales. Para su empleo se recomienda utilizar lo más posible el índice de las subpáginas.

En casos de emergencia química es muy útil la versión en español de la base de datos **ERG 2000**, disponible no sólo en línea, sino también en versión descargable.

Si nos concretamos a las **Fichas de Seguridad Química**, es bastante interesante la colección en español del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, que también recoge muy diversa información, como los valores límites ambientales (VLA) y biológicos (VLB). A través de la página MSDS se accede a otras muchas bases de datos tanto abiertas como restringidas, que se diferencian sobre todo en el número de compuestos incluidos. Así, por ejemplo, MSDS Online dispone de 1200000 fichas, MSDS Solutions 1000000, Seton Compliance Resource Center 350000, MSDSs.com 300000, etc.



## ¿CÓMO SE LOCALIZA LA INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA EN UNA BASE DE DATOS?

Las bases de datos emplean diferentes criterios para la clasificación y búsqueda de la información, lo que obliga al usuario a adaptarse y a recordar las peculiaridades de cada una de ellas si desea obtener con rapidez resultados útiles.

Una vez instalada la base de datos se accede al programa de búsquedas. En el caso de las bases de datos en Internet se abre el navegador, y en la ventana de selección se teclea exactamente la dirección completa de la página de acceso a cada base de datos, que se identifica con las siglas "http".

**Selección de bases de datos toxicológicas accesibles libremente en Internet (todas ellas incluidas en Buscatox <http://busca-tox.com>)**

Emergencias químicas	Erg Canutec	<a href="http://www.tc.gc.ca/canutec/erggmu/indicematerial.aspx">http://www.tc.gc.ca/canutec/erggmu/indicematerial.aspx</a>
Información de un compuesto	H S D B (la mejor) >4700	<a href="http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB">http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB</a>
	INCHEM	<a href="http://www.inchem.org/search2.html">http://www.inchem.org/search2.html</a>
	INSHT	<a href="http://www.mtas.es/insht/principal/busquedas.htm">http://www.mtas.es/insht/principal/busquedas.htm</a>
	BVSA	<a href="http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacep/e/servi.html">http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacep/e/servi.html</a>
	Toxicologia.net	<a href="http://wzar.unizar.es/stc/toxicologianet/index.htm">http://wzar.unizar.es/stc/toxicologianet/index.htm</a>
	NTP	<a href="http://ntp-apps.niehs.nih.gov/ntp_tox/index.cfm">http://ntp-apps.niehs.nih.gov/ntp_tox/index.cfm</a>
	NIOSH	<a href="http://www.cdc.gov/niosh/srh-nio1.html">http://www.cdc.gov/niosh/srh-nio1.html</a>
Clasificación compuesto por	UE Toxicidad: E S I S (EINECS, IUCLID, ELINCS...)	<a href="http://ecb.jrc.it/esis/">http://ecb.jrc.it/esis/</a>
	Ecotoxicidad: N-Class	<a href="http://www.kemi.se/nclass/SpecificSubstance.asp">http://www.kemi.se/nclass/SpecificSubstance.asp</a>
	Carcinogenicidad: IARC	<a href="http://www.iarc.fr/">http://www.iarc.fr/</a>
Seguridad química y limitaciones en el trabajo	INSHT: Fichas Seguridad Química, VLA, VLB	<a href="http://www.mtas.es/insht/principal/busquedas.htm">http://www.mtas.es/insht/principal/busquedas.htm</a>
	MSDS (bases de FDS)	<a href="http://www.ilpi.com/msds/index.html">http://www.ilpi.com/msds/index.html</a>
	Haz-Map	<a href="http://hazmap.nlm.nih.gov/">http://hazmap.nlm.nih.gov/</a>
Compuestos según su uso	Productos del hogar	<a href="http://hpd.nlm.nih.gov/">http://hpd.nlm.nih.gov/</a>
	Plaguicidas (Exttoxnet)	<a href="http://ace.orst.edu/info/exttoxnet/pips/ghindex.html">http://ace.orst.edu/info/exttoxnet/pips/ghindex.html</a>
	Contaminantes ambientales	<a href="http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?TRI">http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?TRI</a>
Concentraciones en fluidos biológicos	Tabla CFB	<a href="http://www.us.es/toxicologia/13conc/infota.htm">http://www.us.es/toxicologia/13conc/infota.htm</a>
Tratamiento de intoxicados	Protocolos del Hospital Clínic de Barcelona	<a href="http://wzar.unizar.es/stc/actividades/protocolos.html">http://wzar.unizar.es/stc/actividades/protocolos.html</a>
	INTOX	<a href="http://www.intox.org/pagesource/treatment/spanish/guides_list_espanol.htm">http://www.intox.org/pagesource/treatment/spanish/guides_list_espanol.htm</a>
Información original (bibliografía)	TOXLINE	<a href="http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?TOXLINE">http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?TOXLINE</a>
	NLM-GATEWAY	<a href="http://gateway.nlm.nih.gov/gw/Command">http://gateway.nlm.nih.gov/gw/Command</a>
Conjunto de bases de datos	TOXNET	<a href="http://toxnet.nlm.nih.gov/index.html">http://toxnet.nlm.nih.gov/index.html</a>
	ChemIDplus	<a href="http://chem2.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidlite.jsp">http://chem2.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidlite.jsp</a>
	eChemPortal	<a href="http://webnet3.oecd.org/echemportal/">http://webnet3.oecd.org/echemportal/</a>
	ChemFinder	<a href="http://chemfinder.cambridgesoft.com/">http://chemfinder.cambridgesoft.com/</a>
	BUSCATOX	<a href="http://busca-tox.com">http://busca-tox.com</a>

Quando se abre la página, se escriben en la ventana de búsqueda los términos que mejor definan el objetivo de la misma. No es posible dar recomendaciones generales, ya que cada base de datos es diferente de las demás. En algunas bases de datos la *Busqueda de datos toxicológicos. Curso Reach. G Repetto y A del Peso. Universidad de Alcalá 2008*

búsqueda se realiza a través de menús, pulsando sucesivamente en las letras y términos, generalmente subrayados y en azul, que enlazan sus contenidos.

La eficiencia en localizar información exclusiva del compuesto solicitado es muy variada dependiendo de la base de datos. Por ejemplo, es del 63% para ChemFinder y del 73% para ChemIDplus. Este aspecto es fundamental ya que muchas publicaciones citan los compuestos estudiados con nomenclaturas antiguas. Es muy conveniente seguir las recomendaciones de la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) o mejor aún, emplear el número clave exclusivo asignado por el Chemical Abstracts Service (CAS) para más de 25 millones de sustancias. Otras entidades también emplean sus propias claves, como RTECS, EINECS, EEC, etc.

En primer lugar es preciso definir claramente cuál es la información que se desea encontrar. Es recomendable preparar previamente una lista con los **descriptores**, sinónimos o frases que mejor definan el objetivo, usando el idioma de la base de datos. Los términos suelen combinarse entre sí para reducir el número de respuestas, empleando cuando sean necesario comandos de inclusión de ambos (y/and/+), inclusión de alguno (o/or/,) o exclusión (no/not/-).

Para no perder información, se recomienda utilizar términos en singular, o mejor aún, usar sólo la parte básica de la palabra, truncamiento que en algunos archivos será preciso señalar con símbolos como "\*" ó "?". Por ejemplo, si el término empleado es "toxi\*", la búsqueda identificará todas las variantes, como toxinas, tóxico, toxicidad, etc.

La elección de los términos adecuados requiere práctica, por lo que es muy útil comenzar con palabras clave de alguna publicación de tema semejante al objetivo. Las diferentes estrategias de ir añadiendo o reduciendo términos persiguen obtener un número adecuado, es decir, suficiente pero no demasiado alto que permita manejar las respuestas.

### Algunas direcciones interesantes que ofrecen información sobre el REACH

Navigator, ECHA <a href="http://reach.jrc.it/navigator_es.htm">http://reach.jrc.it/navigator_es.htm</a>
REACH, EUROPA, European Commission, Environment, Chemicals <a href="http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_intro.htm">http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_intro.htm</a>
REACH & GHS, European Commission, Enterprise and Industry, Industry Sectors <a href="http://ec.europa.eu/enterprise/reach/index_en.htm">http://ec.europa.eu/enterprise/reach/index_en.htm</a>
Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos (ECHA) <a href="http://echa.europa.eu/home_es.html">http://echa.europa.eu/home_es.html</a>
Plataforma Tecnológica Española de Química Sostenible <a href="http://www.pte-quimicasostenible.org/">http://www.pte-quimicasostenible.org/</a>
Portal Salud-UE <a href="http://ec.europa.eu/health-eu/index_es.htm">http://ec.europa.eu/health-eu/index_es.htm</a>
Salud Medioambiental, Portal Salud-UE <a href="http://ec.europa.eu/health-eu/my_environment/environmental_health/index_es.htm">http://ec.europa.eu/health-eu/my_environment/environmental_health/index_es.htm</a>
Riesgos químicos, Portal Salud-UE <a href="http://ec.europa.eu/health-eu/my_environment/chemical_risks/index_es.htm">http://ec.europa.eu/health-eu/my_environment/chemical_risks/index_es.htm</a>



Para poder practicar y aprender o mejorar en la eficiencia de la búsqueda de información es necesario un entrenamiento periódico para estar al día de las nuevas estructuras y funciones de búsqueda de las bases de datos.

Se recomienda realizar el curso práctico de autoaprendizaje de Buscatox disponible en la página <http://busca-tox.com> y practicar periódicamente con distintas bases de datos. Esta es la única manera de estar preparados y ser capaces de encontrar eficientemente información útil para tomar decisiones trascendentes y generalmente urgentes, como se nos demanda en la práctica profesional.

## **Bibliografía**

1. Arufe MI (2001) Programas informáticos de libre distribución en Internet: aplicaciones educativas en toxicología. Rev Toxicol 18: 5-7
2. Brinkhuis RP (2001) Toxicology information from US government agencies. Toxicology 157: 25-49
3. Guerbet M, Guyodo G (2002) Comparison of 35 electronic databases for environmental risk assessment. Environ Toxicol 17: 7-13
4. Repetto G, Cameán AM, Castaño A, Jos A, González Muñoz MJ, Moreno IM, del Peso A, Pichardo S, Repetto M, Repetto MR, Ríos JC, Zurita J. Búsqueda e Interpretación de la Información Toxicológica. Módulo 21. En: "Ampliación de Toxicología de Postgrado". M. Repetto, ed. Area de Toxicología. Universidad de Sevilla. CD-ROM. Sevilla, 2005.
5. Repetto G, Moreno I, del Peso A, Repetto M, Cameán AM (2001) La búsqueda de información toxicológica: módulo práctico de aprendizaje. Revista de Toxicología 18:92-98
6. South JC (2001) Online resources for news about toxicology and other environmental topics. Toxicology 157: 153-164
7. Wexler P, Hakkinen PJ, Kennedy GL, Stoss FW (2000) Information Resources in Toxicology. 3ª Ed. Academic Press, San Diego. pp. 921.
8. Wexler P (2001) TOXNET: An evolving web resource for toxicology and environmental health information. Toxicology 157: 3-10
9. Wright LL (2001) Searching fee and non-fee toxicology information resources: an overview of selected databases. Toxicology 157: 89-110

# Búsqueda de Datos – Casos Prácticos. Curso REACH. Universidad de Alcalá 2 julio 2008

Guillermo REPETTO KUHN  
Carmen José MATEOS VEGA

Para el aprendizaje a la búsqueda de información de interés para la aplicación del REACH se sugiere la realización de dos módulos prácticos.  
Se sugiere el empleo de <http://busca-tox.com> para acceder a las bases de datos.

## BLOQUE A:

R1.1.: Necesitamos localizar varios datos sobre Pentaclorofenol. [Se recomienda iniciar la búsqueda a través de eChemPortal]: ¿Cuál es su número CAS?

R1.2.: ¿Es muy bioacumulable?

R1.3. ¿Cuál es su solubilidad en agua?

R1.4. ¿Tiene número de identificación de la Unión Europea? [Se recomienda ESIS]

R1.5. ¿Qué pictogramas deben aplicarsele?

R1.6. ¿Se produce en gran cantidad?

R1.7. ¿Qué significa que esté incluido en el Anexo I parte 1 de la Regulación 304/2003?

R2.1. ¿Cuál es la sustancia con CAS 67-66-3?

R2.2. ¿Es muy bioacumulable?

R2.3. ¿Se produce en gran cantidad?

R2.4. ¿Hay algún productor o importador español?

R2.5. En la base de datos ESIS, en el extracto de IUCLID, ¿qué DL50 vía oral figura en rata? ¿Se estudiaron bajo BPL?

2.6. ¿Se considera un sustancia prioritaria según el CR 793/93?

3.1 ¿Es muy persistente en agua la tetraclorodibenzo-p-dioxina?

3.2. ¿Tiende a bioconcentrarse?

3.4 ¿Cómo se clasifica por el IARC en cuanto a carcinogenicidad?

3.5 ¿Es mutagénico?. [Usar GeneTox, si se prefiere partiendo de TOXNET].

**BLOQUE B:** Se recomienda empezar con las marcadas con\*

**Módulo de búsqueda de información toxicológica.** <http://busca-tox.com>

Se ofrece la posibilidad de realizar un curso gratuito en línea de aprendizaje a la búsqueda de información toxicológica, localizando la siguiente información.

### 1.- Lo básico: las Hojas de seguridad química

En las hojas de seguridad química (MSDS) se encuentra la información básica sobre las sustancias en forma algo más ampliada de la que aparece en las etiquetas de los productos. Se sugiere acceder a las Fichas Internacionales de Seguridad Química en "Ficha Seg. Q".

\*1.1.- En una industria se va a utilizar una serie de compuestos, y es necesario conocer previamente las recomendaciones para su transporte y uso. ¿Cuáles son las medidas de seguridad adecuadas para el almacenamiento del plaguicida paration?

Para el tratamiento y preparación del informe se precisan los siguientes datos: N° CAS, N° RTECS, N° CE.

¿cuál es la clasificación y etiquetado en Europa?;

1.2.- ¿Cuál es el coeficiente de reparto octanol/agua de la hidroquinona?

1.3.- ¿Cuáles son los efectos de la exposición prolongada al herbicida aminotriazol o amitrol?

### 2.- Emergencias químicas

En los casos de emergencia química es necesario disponer rápidamente de información sobre las características físico-químicas y de toxicidad. Algunas bases de datos, han elaborado fichas que facilitan la respuesta. Usar "Emergencias- ERG", cuidando de acentuar las palabras adecuadamente.

\*2.1.- Se ha producido un accidente de un camión que transporta acetileno. Las autoridades nos consultan sobre cuáles serían las medidas a adoptar

2.2.- ¿Cuál sería el área a aislar ante un escape de amoniaco que se ha incendiado?

2.3.- ¿Qué puede ocurrir con los contenedores de amoniaco al calentarlos?

2.4.- En una intoxicación por flúor, ¿convendría aplicar respiración artificial?

### 3.- Interpretación de las concentraciones de tóxicos en fluidos biológicos

Uno de los aspectos más complejos en toxicología lo constituye la interpretación de los valores analíticos de compuestos en muestras de intoxicados. Se recomienda emplear la Tabla de Valores de Referencia en Fluidos Biológicos (Repetto y Repetto) pulsando en PDF.

\*3.1.- Se ha encontrado a un hombre de unos 25 años y 75 Kg de peso en la calle con un cuadro compatible con una intoxicación. La analítica sanguínea ofrece los siguientes resultados: 1 mg/L de acebutolol en suero; 40 mg/L de acetazolamida en sangre; y 30 mg/L de acetona en orina. ¿Cómo se interpretan estos datos?

### 4.- Niveles ocupacionales

Utilizar las bases de datos ocupacionales correspondientes.

\*4.1.- ¿Cuales son los Valores de Exposición Diaria (VLA-ED) y los de Exposición de Corta duración (VLA-EC) para Acetato de isoamilo según la legislación laboral española?

En una empresa que produce pinturas se detecta una concentración en el aire de 400 mg/m<sup>3</sup> de Acetato de isoamilo ¿Cumple esta empresa los valores límites de exposición ambiental laboral al Acetato de isoamilo ?

4.2.- En una empresa que produce plaguicidas se detecta una concentración en el aire de 5 mg/m<sup>3</sup> de arsénico. Sabiendo que es un cancerígeno, ¿cumple esta empresa los valores límite de exposición ambiental laboral de arsénico ? ¿Cuál es el valor límite ambiental ?

4.3.- Para el control de fumigadores de plaguicidas Organofosforados se les determina como biomarcador la colinesterasa eritrocitaria. ¿Cuál es el Valor Límite Biológico (VLB) y qué significa?

4.4.- Los trabajadores de un horno presentan expuestos a Monóxido de carbono presentan un 6% de Carboxihemoglobina en sangre. ¿Se supera el VLB? ¿Qué haremos?

### 5.- Búsqueda de Información toxicológica general

Como se ha indicado previamente, para la localización de datos generales o de toxicidad en animales y humanos podrían utilizarse buscadores generales, buscadores para compuestos químicos (ChemFinder o ChemIDplus) y buscadores especializados. Se sugiere iniciar la búsqueda con la base más potente actualmente que es la norteamericana HSDB (Hazardous Substances Data Bank) que revisa más de 4500 compuestos.

- \*5.1.- Se ha producido una autointoxicación humana por el herbicida paraquat. ¿cuál es la dosis más baja que ha producido la muerte en el hombre (DLL0)?; ¿es conveniente el tratamiento con oxigenoterapia?; ¿cuál es la especie animal (no acuática) más sensible?
- 5.2.- ¿Qué tipo de factores determinan la velocidad de acetilación de Dapsone? Se sugiere utilizar la base de datos HSDB.
- 5.3.- ¿Qué compuesto de los generados es responsable de la metahemoglobinemia y hemólisis por dapsone?
- 5.4.- ¿Cuánto tiempo separa la aparición de los picos de cocaína en plasma y la máxima euforia?
- \*5.5.- En una buena base de datos no encontramos información sobre el compuesto toxifosfato de paracelso ¿Qué significa esto?
- 5.6.- Al analizar agua potable se detecta una concentración de arsénico de 30 microg/L. ¿Respete este alimento la concentración máxima permitida de arsénico en agua en la Unión Europea? ¿Cuál es el límite? (Se sugiere usar en Legislación Legal File, arsenic, EEC, water).

## 6.- Tratamiento de las intoxicaciones

El tratamiento específico para cada sustancia puede encontrarse en bases de datos generales como HSDB, o en el caso de síndromes puede ser útil "INTOX".

- 6.1.- ¿Cuál sería el tratamiento indicado en una rabdomiolisis inducida por amatoxinas?
- 6.2.- ¿Qué tratamiento estaría indicado en un síndrome serotoninérgico por cocaína?

## 7.- Cáncer / Reproducción

Los datos que no figuren en bases de datos generales pueden obtenerse en las específicas para estos tipos de efectos (IARC/OMS).

- 7.1.- ¿Cómo está clasificado el arsénico por el IARC en relación con la carcinogenicidad?
- \*7.2.- ¿Cuál es la clasificación actual de la sacarina en relación a su capacidad carcinogénica? (saccharin)
- 7.3.- ¿Cómo se clasifica el formaldehído desde 2004?

## 8.- Evaluación del riesgo

Los valores empleados en la evaluación del riesgo tóxico se pueden buscar en International Toxicity Estimates for Risk (ITER) Database.

- \*8.1.- ¿Cuáles son los valores de referencia en toxicidad oral (no cáncer) para el fungicida pentaclorofenol? (pentachlorophenol)
- 8.2.- ¿Cuál es la dosis de referencia (no cáncer) para Tetraetil plomo? (tetraethyl lead)

## 9.- Evaluación toxicidad: Protocolos OCDE, EPA

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, la Agencia de Protección Medioambiental, etc establecen protocolos estandarizados que son exigidos por las diversas regulaciones para evaluar la toxicidad y caracterizar compuestos y muestras.

- 9.1.- ¿Cuáles son los números clave de los protocolos oficiales actualmente vigentes de la OCDE para la determinación de la dosis letal media por vía oral?
- \*9.2.- ¿Cuál es la clave del procedimiento para evaluar la sensibilización dérmica en la Unión Europea?
- 9.3.- ¿Dónde pueden encontrarse modelos alternativos al uso de animales?

## 10.- Toxicología Ambiental

La búsqueda de datos de toxicidad sobre el medio ambiente de compuestos químicos puede realizarse en la base de datos "Ecotox". Su sistema de búsqueda sencilla (quick search) es muy útil. Las denominaciones de los organismos de ensayo pueden introducirse en inglés o en terminología latina.

- \*10.1.- ¿Cuál es la concentración letal media a 96 hr de exposición para el compuesto con número CAS 7718549 en el cangrejo *Orconectes limosus*?
- 10.2.- ¿Cuál es la concentración eficaz media (y su intervalo de confianza) para 48 hr de clordane en el cladóceros *Daphnia magna*? (chlordan)
- 10.3.- ¿Cuál es la CL50 a los 8 días de exposición a heptaclor en perdiz japonesa? (heptachlor, *Coturnix japonica*)
- 10.4.- ¿Cuál es el nivel sin efecto observado a los 21 días de exposición a 2,4-dinitrofenol en *Oncorhynchus mykiss*? (dinitrophenol)

## **11.- Información bibliográfica toxicológica // Mecanismos**

Con gran frecuencia es preciso acceder a información bibliográfica original y reciente, a resúmenes de publicaciones y artículos, es decir, a información no depurada, como la que figura en las otras bases de datos ya consideradas en este módulo. "Toxline" recoge casi 3 millones de citas bibliográficas incluyendo aspectos toxicológicos en humanos y otros organismos.

\*11.1.- Aunque conocemos que el mecanismo de acción de las microcistinas es por alteración de los microtúbulos, necesitamos localizar un artículo científico reciente que emplee un método colorimétrico para detectarlas. ¿Cuál es el primer autor? (microcystin, colorimetric).

11.2.- ¿En qué revista fue publicado un trabajo sobre el contenido de cobalto, manganeso, y alcohol en cervezas de Andalucía? (cobalt, manganese, ethanol, beer).

11.3.- En el año 2000 se publicó un artículo sobre dioxinas en la revista Archives of Environmental Contamination Toxicology; ¿Quién fue el primer autor del trabajo? Se recomienda introducir el título abreviado de las revistas, en vez del nombre completo (dioxin).

## **12.- Legislación EU, US**

Una gran diferencia de la toxicología, y particularmente de su rama reguladora, con respecto a otras disciplinas se deriva de la obligación del cumplimiento de normativas de muy diverso ámbito, con frecuencia muy cambiantes. A través de diversas bases de datos es posible localizar al menos una parte de la misma.

12.1.- ¿Cuál es la Directiva de la Comisión de 19 de mayo de 2000 por la que se adapta por vigesimosexta vez al progreso técnico la Directiva 67/548/CEE del Consejo relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, embalaje y etiquetado de las sustancias peligrosas?

12.2.- En la legislación española, la ORDEN de 22 de enero de 2001, ¿qué número de modificación es del anexo II del Real Decreto 280/1994, de 18 de febrero, por el que se establece los límites máximos de residuos de plaguicidas y su control en determinados productos de origen vegetal?

## **13.- Farmacología**

Existe un cierto paralelismo en la información sobre aspectos farmacológicos y toxicológicos. Se sugiere revisar las direcciones indicadas.

## **14.- Simulaciones**

Se presentan algunas direcciones con simulaciones en las áreas de Farmacología y Toxicología.

## **15.- Organizaciones relacionadas con la toxicología**

Se propone la visita a las direcciones indicadas

## **16.- Foros en español**

Existen foros de discusión para profesionales y estudiantes de Toxicología utilizando correo electrónico. Ello permite el intercambio de información de todo tipo, y mantenerse al día de reuniones, cursos, legislación, técnicas, etc. Dado que son abiertos y gratuitos se sugiere la visita a sus páginas de información y la inscripción.

Se recomienda realizar el curso práctico de autoaprendizaje de Buscatox disponible en la página <http://busca-tox.com> y practicar periódicamente con distintas bases de datos. Esta es la única manera de estar preparados y ser capaces de encontrar eficientemente información útil para tomar decisiones trascendentes y generalmente urgentes, como se nos demanda en la práctica profesional.



**Grupo de Biotransformaciones (BTG)**  
**Departamento de Química Orgánica y**  
**Farmacéutica**  
**Facultad de Farmacia. Universidad**  
**Complutense de Madrid (UCM)**  
**<http://www.biotransformaciones.com>**

# *Compuestos orgánicos volátiles en el medio ambiente*

*Prof. Dr. José María Sánchez Montero*

**[jsanchez@farm.ucm.es](mailto:jsanchez@farm.ucm.es)**

Los compuestos orgánicos volátiles (COVs), a veces llamados VOC (por sus siglas en inglés), son compuestos orgánicos constituidos fundamentalmente por carbono que se convierten fácilmente en vapor o gas y que tienen a 20° C una presión de vapor de 0,01 kPa o más, o una volatilidad equivalente en las condiciones particulares de uso.

En general son compuestos con puntos de ebullición que oscilan entre 50 y 260 ° C (WHO, 1989; Guenther et al., 1995; Rudd, 1995). Los heteroátomos más habituales que forman parte de los COVs suelen ser oxígeno, flúor, cloro, bromo, azufre o nitrógeno. El término COV agrupa a una gran cantidad de tipos de compuestos químicos, entre los que se incluyen los hidrocarburos alifáticos, los aromáticos y los hidrocarburos clorados, aldehídos, cetonas, éteres, ácidos y alcoholes.

Los COVs son liberados por la quema de combustibles, como gasolina, madera, carbón o gas natural. También son liberados por disolventes, pinturas, pegamentos y otros productos empleados y almacenados en los hogares y centros de trabajo.

# Clasificación de COVs

De forma general los compuestos orgánicos se pueden clasificar en dos grupos principales :

1. Los tradicionales *Major Air Pollutants* (MAP) o **principales agentes contaminantes** que comprenden dióxido de azufre, dióxido de nitrógeno, monóxido de carbono, partículas y los contaminates secundarios de ozono.

2. *Hazardous Air pollutants* o **Agentes contaminantes peligrosos** (HAP) entre los que están comprendidos agentes químicos, físicos y biológicos de diferentes tipos. Los HAP están generalmente presentes en la atmósfera en mucha menor concentración que los MAP aunque son más difíciles de controlar debido a que en muchas ocasiones no son identificados (Wiederkehr et al., 1998). **Entre los HAP los mas importantes son los COVs y los PAH.**

2a) **Compuestos orgánicos volátiles (COVs)** emitidos principalmente a través de la combustión parcial de carburantes y a través de la evaporación de disolventes orgánicos. De ellos destacan el benceno y el 1,3-butadieno por ser potencialmente cancerígenos. Ambos son emitidos principalmente a través de la combustión de petróleo y sus derivados.

2b) **Hidrocarburos poliaromáticos (PAH):** son compuestos emitidos en cantidades pequeñas a la atmósfera pero son potencialmente cancerígenos (Enya et al., 1997; Larsen and Larsen, 1998).





La liberación de COVs al aire puede compararse sobre la base de su capacidad para formar ozono en relación a etileno también denominado factor de producción de ozono troposférico (POCP, Photochemical Ozone Creation Potential).

Es importante señalar el control de la incidencia en el Medio Ambiente por el concepto POCP [ $\text{NO} + \text{O}_3 = \text{NO}_2 + \text{O}_2$ ].

En 2003, el POCP relacionado con emisiones de disolventes fue de 2,21 millones de kilogramos equivalentes a etileno. En las moléculas orgánicas más complejas se mide su importancia como contaminante por su capacidad de producir ozono

Tabla 2. Factor de producción de ozono fotoquímico

COMPUESTO	POCP
Alquenos	84
Aromáticos	76
Aldehídos	44
Alcanos	42
Cetonas	41
Esteres	22
Alcoholes	20

La mayoría de los COVs son peligrosos contaminantes del aire

La contaminación atmosférica o el smog (acrónimo derivado de las palabras inglesas *smoke* -humo- y *fog* -niebla-) es una forma de contaminación originada a partir de la combinación del aire con unos contaminantes determinados durante un largo período de altas presiones (anticiclón), que provoca el estancamiento del aire y, por tanto, la permanencia de los contaminantes en las capas más bajas de la atmósfera, debido a su mayor densidad. Existen dos tipos de *smog*:



# Smog Industrial

El llamado smog industrial o gris fue muy típico en algunas ciudades grandes, como Londres o Chicago, con mucha industria, en las que, hasta hace unos años, se quemaban grandes cantidades de carbón y petróleo pesado con mucho azufre, en instalaciones industriales y de calefacción (Wichmann, 2004). En estas ciudades se formaba una mezcla de dióxido de azufre, gotitas de ácido sulfúrico formado a partir del anterior y una gran variedad de partículas sólidas en suspensión, que originaba una espesa niebla cargada de contaminantes, con efectos muy nocivos para la salud de las personas y para la conservación de edificios y materiales (Fenger, 1999).

En la actualidad en los países desarrollados los combustibles que originan este tipo de contaminación se queman en instalaciones con sistemas de depuración o dispersión mejores y raramente se encuentra este tipo de polución, pero en países en vías de industrialización como China o algunos países de Europa del Este todavía es un grave problema en algunas ciudades.



# Smog fotoquímico

En muchas ciudades el principal problema de contaminación es el llamado **smog fotoquímico**. Con este nombre nos referimos a una **mezcla de contaminantes de origen primario (NOx e hidrocarburos volátiles) con otros secundarios (ozono, peroxiacilo, radicales hidroxilo, etc.) que se forman por reacciones producidas por la luz solar al incidir sobre los primeros.**

Esta mezcla oscurece la atmósfera dejando el aire teñido de color marrón rojizo cargado de componentes perjudiciales para los seres vivos (**Whittaker et al, 2004**).

Aunque prácticamente en todas las ciudades del mundo hay problemas con este tipo de contaminación, **es especialmente importante en las que están en lugares con clima seco, cálido y soleado, y tienen muchos vehículos.** El verano es la peor estación para este tipo de polución y, además, algunos fenómenos climatológicos, como las inversiones térmicas, pueden agravar este problema en determinadas épocas ya que dificultan la renovación del aire y la eliminación de los contaminantes.

En la situación habitual de la atmósfera la temperatura desciende con la altitud lo que favorece que suba el aire más caliente (menos denso) y arrastre a los contaminantes hacia arriba.



En una situación de inversión térmica una capa de aire más cálido se sitúa sobre el aire superficial más frío e impide la ascensión de este último (más denso), por lo que la contaminación queda encerrada y va aumentando.

Las reacciones fotoquímicas que originan este fenómeno suceden cuando la mezcla de óxidos de nitrógeno e hidrocarburos volátiles emitida por los automóviles y el oxígeno atmosférico reaccionan, inducidos por la luz solar, en un complejo sistema de reacciones que acaba formando ozono.

El ozono es una molécula muy reactiva que sigue reaccionando con otros contaminantes presentes en el aire y acaba formando un conjunto de varias decenas de sustancias distintas como nitratos de peroxiacilo (PAN), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), radicales hidroxilo (OH), formaldehído, etc.

Estas sustancias, en conjunto, pueden producir importantes daños en los sistemas vivos.



**Tabla 1: Relación de sustancias volátiles precursoras de ozono según Directiva 2002/3/CE del Parlamento Europeo y del Consejo relativa al ozono.**

<i>Etano</i>	<i>cis-2-Buteno</i>	n-Heptano	1,2,3-Trimetilbenceno
<i>Etileno</i>	<i>1,3-Butadieno</i>	n-Octano	1,3,5-Trimetilbenceno
<i>Acetileno</i>	n-Pentano	i-Octano	Hidrocarburos totales no metánicos <sup>1</sup>
<i>Propano</i>	i-Pentano	Benceno	Formaldehido
<i>Propeno</i>	1-Penteno	Tolueno	
<i>n-Butano</i>	2-Penteno	Etilbenceno	
<i>i-Butano</i>	Isopreno	<i>m+p</i> -Xileno	
<i>1-Buteno</i>	n-Hexano	<i>o</i> -Xileno	
<i>trans-2-Buteno</i>	i-Hexeno	1,2,4-Trimetilbenceno	

<sup>1</sup>HTNM corresponde a la suma de todos los identificados y no identificados por cromatografía de gases en el intervalo C2 a C12 .

El factor de producción de ozono fotoquímico (POCP) asociado a cada tipo de compuestos se indica en la Tabla 2.

# Antecedentes e importancia del estudio

La importancia de los compuestos orgánicos volátiles (COVs) generados por la actividad humana en la química atmosférica se estableció en los años 50 en los estudios realizados sobre el smog de Los Ángeles (Haagen-Smit et al, 1953). En dichos estudios, se identificó el papel clave de la oxidación de estos compuestos, en presencia de luz solar y óxidos de nitrógeno, como una fuente de ozono y otros oxidantes.

Sin embargo, a pesar de la importancia que han cobrado últimamente los COVs, son escasas las investigaciones llevadas a cabo para su identificación, determinación y cuantificación, especialmente en ambientes rurales.

Los procesos biogénicos naturales también suponen un aporte de COVs a la atmósfera e incluyen las emisiones de plantas, árboles, animales, incendios forestales, procesos anaerobios en turberas y pantanos, etc. Por otra parte, algunos COVs también están presentes en la atmósfera como resultado de la degradación fotoquímica de otros COVs.

El estudio de los COVs resulta de especial relevancia debido a que dichos contaminantes juegan un papel importante en muchos de los problemas medioambientales actuales:



- a) **Agotamiento del ozono estratosférico.** Muchos COVs presentan gran estabilidad química y son capaces de alcanzar la estratosfera. Si contienen cloro o bromo en su estructura, los procesos de fotólisis estratosférica y la destrucción a cargo del radical hidroxilo pueden conducir a la liberación de compuestos desencadenantes de la destrucción de ozono (Derwent, 1995).
- b) **Efectos tóxicos o carcinogénicos en la salud humana.** Muchos COVs causan efectos directos sobre la salud humana mediante su olor, o por su efecto narcótico. Especial interés tienen aquellos que presentan efectos carcinogénicos como el benceno y el 1,3-butadieno (WHO, 2000), que son agentes inductores de leucemia, o los hidrocarburos policíclicos aromáticos, que están clasificados como carcinogénicos y mutagénicos (Ho y Lee, 2002).
- c) **Formación fotoquímica de ozono troposférico.** En presencia de óxidos de nitrógeno y luz solar, los COVs reaccionan formando ozono (Atkinson, 2000), que no solo resulta alarmante para la salud humana, sino también para cultivos y vegetación, receptores sobre los que ejerce un efecto fitotóxico (Sandermann et al., 1997; Krupa y Manning, 1988). Por tanto, los COVs no solo presentan problemas de acción directa, sino también como contaminantes secundarios, siendo precursores de sustancias oxidantes.



c) **Potenciación del efecto invernadero global.** Si los COVs que se acumulan en la troposfera tienen la capacidad de absorber radiación infrarroja terrestre o solar pueden potenciar el efecto invernadero. Algunos compuestos carecen de dicha capacidad pero pueden modificar las distribuciones globales de otros gases que sí la poseen. En consecuencia, pueden contribuir mediante la formación de ozono troposférico (gas de efecto invernadero que posee un potencial 2000 veces superior al CO<sub>2</sub>) o aumentando o disminuyendo la distribución de radical hidroxilo troposférico y, por tanto, perturbando la distribución de metano (Derwent, 1995).

d) **Acumulación y persistencia en el ambiente.** Algunos COVs, especialmente los de alto peso molecular, superan los procesos de oxidación y se vuelven persistentes, siendo adsorbidos sobre partículas y transportados a largas distancias (Guo et al., 2004).

Debido a los motivos enunciados anteriormente, la mayor parte de los estudios sobre COVs se han desarrollado en ciudades. Sin embargo, los estudios en zonas rurales son muy escasos (Cerqueira et al., 2003; Guo et al., 2004).

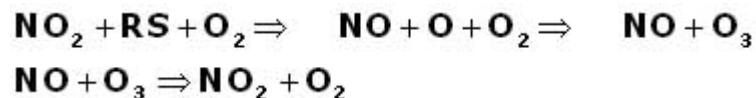
Asimismo, a pesar de conocerse su actividad como precursores de ozono, pocos son los estudios que relacionan ambos parámetros.



## Formación fotoquímica de ozono troposférico.

El Ozono (O<sub>3</sub>) se forma en la atmósfera por la reacción de contaminantes primarios. *Es lo que se denomina un contaminante secundario.* (Atkinson et al., 1997; DeMore et al., 1997)

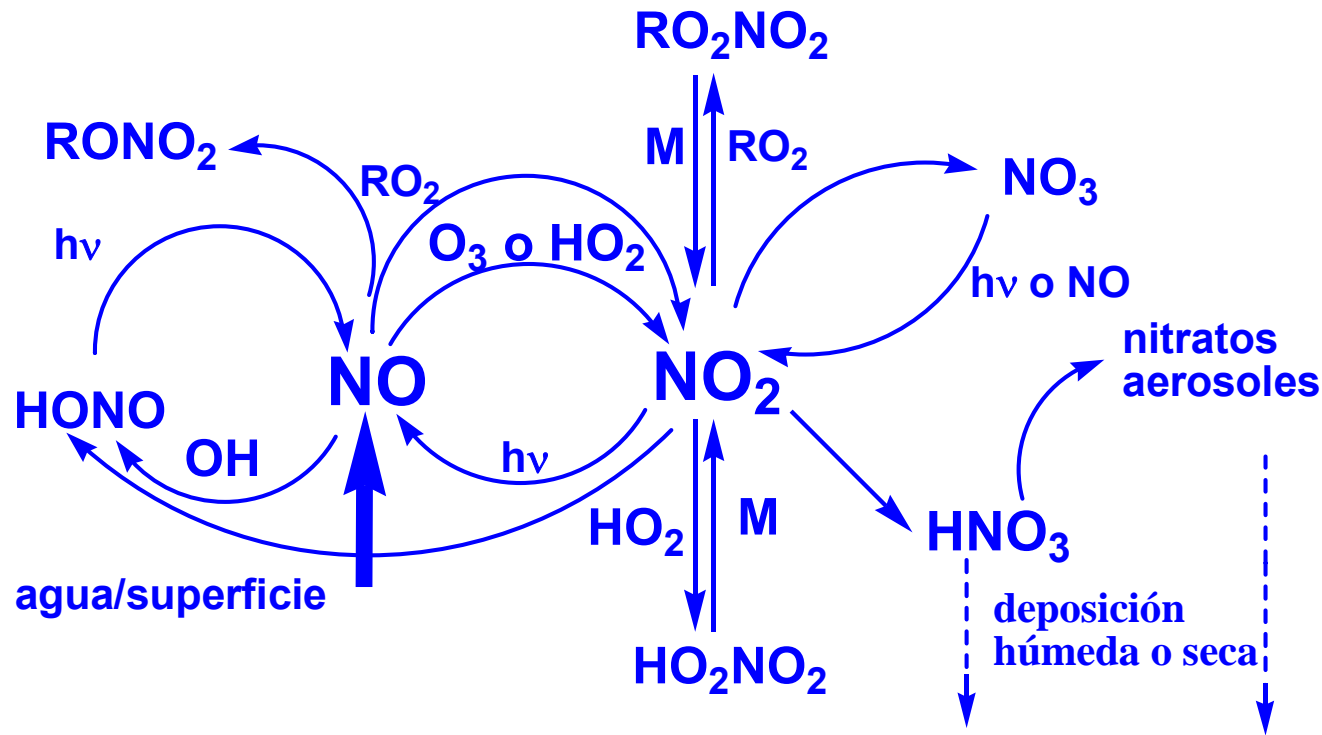
En la troposfera el ozono se genera y destruye a partir de reacciones químicas en las que intervienen contaminantes primarios tales como, NO<sub>2</sub>, NO y compuestos orgánicos volátiles (COVs), ante la presencia de oxígeno (O<sub>2</sub>), una fuerte y constante radiación solar ( $\lambda = 295$  a  $430$ ) y altas temperaturas. La modificación de alguno de estos factores se traduce en un incremento o disminución del ozono, pudiendo alcanzarse altas concentraciones de este contaminante. La reacción típica con los óxidos de nitrógeno es:



En estas reacciones un incremento de la radiación solar provocaría un aumento de la producción de ozono. Por otra parte, introducir contaminantes como los COVs, da lugar a la generación de radicales libres que son capaces de interactuar con los óxidos de nitrógeno sin que se produzca destrucción del ozono, lo que aumenta su concentración. Pero sobretodo es el aumento en la generación de óxidos de nitrógeno, de origen antropogénico, la que provoca que la reacción se desplace y se aumente la concentración de ozono.



Se observa pues que la reacciones de generación de ozono en la atmósfera son complejas y, en ocasiones, la reducción de uno de los precursores no lleva necesariamente a la reducción del ozono generado, pudiendo llegar incluso a aumentarlo. *Es necesario pues actuar conjuntamente sobre todos los contaminantes primarios para prevenir la generación de ozono*



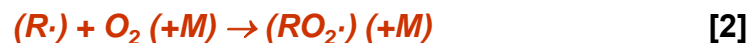
## SUELO

Interconversiones entre los diferentes compuestos oxidados de nitrógeno mediadas por la luz solar en la troposfera

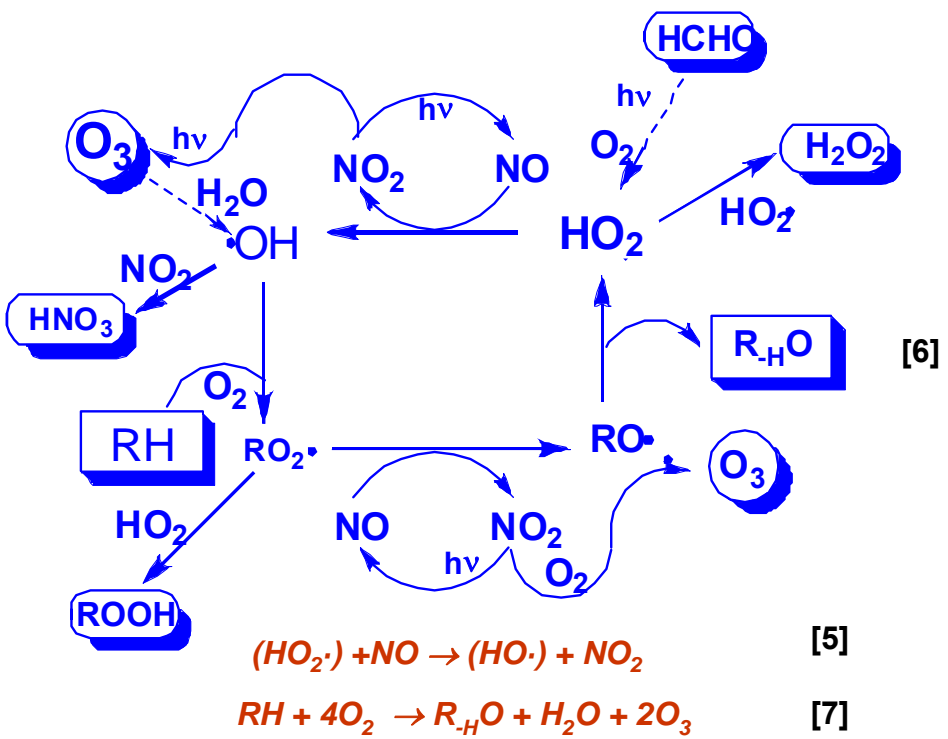
## Papel de los COVs en la formación fotoquímica de ozono.

La formación de ozono en la troposfera está promovida por los COVs. Tal y como hemos indicado anteriormente, se pueden originar especies radicalarias del tipo peróxido, los cuales catalizan la oxidación total de los COVs hasta dióxido de carbono y agua, originándose igualmente especies oxidadas intermedias de naturaleza carbonílica (aldehidos, cetonas o monóxido de carbono), y la consecuente generación colateral de ozono. Una gran variedad de COVs emitidos de diversas fuentes biogénicas y antropogénicas pueden entrar a formar parte de este ciclo de oxidación esquematizado en la Figura 2 para un alcano genérico (RH) hasta su primer estadio de oxidación

De manera común a los procesos de oxidación troposférica de la mayoría de los compuestos orgánicos, la oxidación se inicia a través de radicales hidroxilo (HO·) (ecuación [1]), desencadenado una rápida secuencia de reacciones tal y como se indica a continuación



El proceso genérico [5] muestra cómo los radicales RO· se convierten en hidroperóxido. El mecanismo de este paso depende obviamente de la naturaleza de RO· y, por ende, de la estructura del compuesto orgánico de partida. Para pequeños radicales (ej., CH<sub>3</sub>O·), la producción de hidroperóxido consta de un solo paso, por reacción con oxígeno, originando a su vez un producto de oxidación tipo aldehído o cetona, del tipo genérico R<sub>-H</sub>O (formaldehído en este caso), tal y como se indica en la ecuación [6].



Los radicales orgánicos de cadena más larga pueden también sufrir otros procesos de descomposición térmica o de isomerización, para cadenas de al menos 4 átomos de carbono. En estos casos, el mecanismo implica diversos pasos, lo que conlleva la existencia de otros intermedios radicalarios, aunque en la mayoría de los casos se genera el radical hidroperóxido en el paso final. Por tanto, si asumimos la reacción [6] como el mecanismo general de reacción de los radicales RO·, el proceso general de oxidación del alcano RH hasta R-HO se puede representar en la ecuación [7].

Así pues, por cada molécula de alcano que se oxida en la troposfera se generan dos moléculas de ozono, con los consiguientes perjuicios ya comentados. Y lo que es aun más grave, como la fotólisis del ozono es una de las principales fuentes de producción de radicales hidroperóxido, tal y como se comentará más adelante, nos encontramos ante un vicioso círculo vicioso autocatalítico.



Los primeros compuestos generados por oxidación ( $R_{-H}O$ ) pueden seguir oxidándose por mecanismos similares, generando más ozono, hasta que llegan a su último grado de oxidación ( $CO_2$ ). El penúltimo producto oxidado es de manera habitual el monóxido de carbono (CO), pues de hecho su mayor fuente de producción es la oxidación atmosférica de compuestos orgánicos. Por supuesto, su oxidación hasta dióxido de carbono también genera radicales hidroperóxido y ozono:



Hemos descrito de manera sucinta la química subyacente a la oxidación atmosférica de alcanos; por lo que respecta a otros COVs, los mecanismos suelen ser similares. De manera genérica, para COVs de bajo peso molecular (como metano, etano, etileno, metanol, terc-butanol, acetaldehído, acetona y éter dimetílico), los mecanismos son bien conocidos (**Atkinson,1994,1997; Atkinson y cols., 1997a; Jenkin y cols., 1997a**)

Para muchos otros, los mecanismos de oxidación definidos por analogía con los anteriores son bastante consistentes con los datos experimentales, y se puede de esta forma postular posibles mecanismos de oxidación para otros COVs de los que se disponga de pocos datos experimentales (Porter y cols, 1997). No obstante, existen aun dudas acerca de los mecanismos de oxidación de hidrocarburos aromáticos o de terpenos.

Por lo que se refiere a su eliminación, existen diferentes mecanismos por los que desaparecen, y se transforman en los llamados reservorios, puesto que pueden volver a producirse a partir de los mismos vía reacciones termo o fotoquímicas. La forma más habitual de desaparición es a través de la coligación de dos radicales entre sí (dos radicales hidroperóxido originarían una molécula de peróxido de hidrógeno y una de oxígeno; un radical hidroxilo coligado con un radical hidroperóxido originaría una molécula de agua y otra de oxígeno), o bien a través de las ya comentadas reacciones con estructuras tipo  $\text{NO}_x$ .



## Efectos de los compuestos orgánicos volátiles para la salud

Los efectos dependerán de la naturaleza de cada compuesto y del grado y del período de exposición al mismo, la cual puede realizarse por inhalación, ingestión o contacto con la piel. La mayor parte de los estudios se refieren a contaminación en espacios interiores debido a la mayor abundancia de estos contaminantes y son menores los estudios referidos a exteriores (Godish, 1989; Lee et al., 2001, 2002a, 2002b; Li et al., 2001; USEPA, 1991))



En general, la exposición a largo plazo a los compuestos orgánicos volátiles puede causar lesiones del hígado, riñones y el sistema nervioso central y cáncer. La exposición a corto plazo puede causar irritación de los ojos y las vías respiratorias, dolor de cabeza, mareo, trastornos visuales, fatiga, pérdida de coordinación, reacciones alérgicas de la piel, náusea y trastornos de la memoria. (6,7-10 USEPA, 1991; DHS, 1989; Godish, 1981,1990; USEPA, 1987).



Los hidrocarburos saturados, además de su volatilidad y alto grado de inflamabilidad, suponen un grave riesgo si son inhalados, afectando al Sistema Nervioso Central (originando desinhibición y/o depresión), a los pulmones, de manera que una exposición prolongada a los mismos puede originar cardiomiopatías, atrofia cerebral, o inclusive demencia.

Los hidrocarburos halogenados, tipo cloroformo, diclorometano, tetracloruro de carbono o 1,1,1-tricloroetano, por citar alguno de los más empleados de entre este tipo de compuestos pueden originar problemas de irritación y dermatitis a nivel tópico, y si se inhalan, conducen a alteraciones en el SNC, riñón, hígado o corazón. Inclusive, se piensa que este tipo de disolventes pueden ser carcinogénicos, mutagénicos o teratogénicos.

De especial importancia son los hidrocarburos llamados clorofluorocarbonados, o más habitualmente, CFCs (freones). Estos compuestos aunque presentan un menor riesgo de producir los efectos nocivos de los hidrocarburos que solamente contienen cloro, representan un grave peligro pues dada su extrema volatilidad ascienden hasta la estratosfera y producen la consabida destrucción de la capa de ozono. También se incluyen entre éstos a los bifenilos policlorados (PCB) contaminantes industriales prohibidos en la actualidad y los cloruros de polivinilo (PVC). En el caso del cloruro de vinilo es un carcinógeno bien conocido para el hombre. Su metabolito epoxi puede provocar un tumor muy raro, el angiosarcoma de hígado.



Los PCB se han utilizado en muchas aplicaciones industriales como aislantes eléctricos. En España existe un escaso conocimiento sobre la cantidad de PCB almacenados y las condiciones de las instalaciones que los contienen) (Porta et al 2004) Diversos estudios han observado que en España muchas muestras de carne, pescado, huevos, leche, mantequilla, queso, cereales, contienen residuos de PCB o isómeros de lindano como el  $\beta$ -hexaclorociclohexano (Porta et al 2004)

Por lo que respecta a los **hidrocarburos aromáticos**, (benceno, tolueno, xilenos, benzonitrilo, o aromáticos clorados), su volatilidad también les hace peligrosos, en especial en el caso del benceno, compuesto cabeza de serie.

Cuando se liberan, diferentes microorganismos pueden degradarlos mediante procesos de oxidaciones a mayor o menor escala, pero si estos compuestos llegan a entornos anaeróbicos (como suelos, por ejemplo), su degradación se ralentiza de manera considerable.

**El benceno es un conocido cancerígeno humano y una fuente importante de él, es la pintura, aunque se puede encontrar en resinas, aceites, plásticos, detergentes, explosivos, productos farmacéuticos, etc.** Generalmente es liberado al medio ambiente a través de la combustión de la gasolina, la cual contiene aproximadamente un 1% de benceno.



El benceno es absorbido en el organismo siguiendo varios caminos entre los que incluimos inhalación, contacto a través de la piel, e ingestión produciendo en función del tiempo y tipo de exposición a diferentes tipos de lesiones.

Parece ser que el benceno es metabolizado por el hígado para originar diferentes tipos de metabolitos, entre ellos el muconaldehído (2,4-hexadienodial), el cual se une de manera covalente tanto a las cadenas de ADN como a diferentes proteínas (Latriano y cols, 1986), por lo que la exposición continuada al benceno tiene efectos mutagénicos y teratogénicos y se ha relacionado con el aumento de leucemia en la población, como se ha podido comprobar en estudios realizados en laboratorio. (Suh et al, 2000)

Sobre la base de los estudios realizados en humanos y animales se ha calculado que la inhalación de benceno produce una unidad de riesgo para cáncer de  $8,3 \cdot 10^{-6}$  ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) (ATSDR, 1991). Se estima que el 70-75% del riesgo de cáncer se atribuye a compuestos como el benceno, 1,3 butadieno y formaldehído (Morello-Frosch et al 2000).

El humo del tabaco también contiene benceno.

Por otra parte, las alfombras son una fuente muy importante de benceno y formaldehído. Una alfombra típica puede contener más de 120 diferentes agentes químicos



Los alcoholes (metanol, etanol, n-propanol, o iso-propanol) son un tipo de disolventes relativamente “**verdes**”, aunque su volatilidad e inflamabilidad puede originar, si existe una exposición prolongada, problemas de irritación ocular, dolores de cabeza, fatiga o pérdida de concentración.

Los éteres (fundamentalmente el éter dietílico o el tetrahidrofurano, THF) son muy frecuentemente usados para disolver productos orgánicos, pues posteriormente pueden eliminarse con facilidad por una simple destilación, aunque su extremada volatilidad origina riesgos de explosión, acentuada por la posibilidad de formar peróxidos inestables. Generalmente se les suele considerar como no muy nocivos para el entorno, pero recientemente se ha detectado que el empleo de terc-butil metil éter (TBME) como sustitutivo del tetraetilplomo en las gasolinas puede conllevar diferentes riesgos para la salud humana o animal (**US. EPA, 93**).

Por último, los disolventes polares apróticos, tipo acetona, 2-butanona, acetonitrilo, N,N-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), o hexametilfosforamida (HMPA), tan habituales en cualquier laboratorio orgánico, tampoco están exentos de peligros.

Las cetonas presentan una casuística semejante a los éteres, mientras que el acetonitrilo puede inhibir la cadena respiratoria.

La DMF puede originar daños renales o hepáticos, e inclusive puede conducir a problemas de impotencia; el DMSO origina dermatitis y malfuncionamiento hepático, y finalmente, la HMPA, aunque es menos volátil, también puede incidir sobre los pulmones, riñones y CNS.

No incluido en esta clasificación pero de gran importancia por su toxicidad es el formaldehído. El formaldehído es un gas incoloro emitido por muchos materiales de construcción y productos relacionados como gomas y resinas. Sin embargo el formaldehído es usado fundamentalmente como un intermedio químico en la fabricación de urea, fenol y resinas de melamina así como en otras muchas aplicaciones. Debido a que el formaldehído es un sensibilizador del sistema inmunológico puede causar alergias múltiples y sensibilidades a sustancias totalmente no relacionadas, si la exposición es permanente. Tos, asma y bronquitis son también síntomas de exposición a formaldehído.

Exposiciones continuas a formaldehído se han asociado con una mayor incidencia de cáncer de pulmón y cáncer nasofaríngeo. La unidad de riesgo de inhalación para el formaldehído se ha estimado en  $1,3 * 10^{-5}$  ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ).

Cuando el 1,3 butadieno y otras sustancias encontradas en los COVs (e.g: propano, propeno, butano o vinil acetileno) son quemados se generan cantidades significativas de compuestos aromáticos polinucleares (HAPs). Estos compuestos no volátiles constituyen un grupo de contaminantes considerado de estudio prioritario debido a sus propiedades mutagénicas, tóxicas y cancerígenas.



En zonas urbanas, las mayores emisiones se hayan asociadas a los motores diesel, mientras que las calefacciones domésticas de carbón y madera principalmente, seguidas de las emisiones de procesos industriales de producción de aluminio y coque serían las fuentes principales en zonas rurales e industriales. De lo dicho se deduce que estas sustancias son extraordinariamente ubicuas, siendo el más conocido el 3,4  $\alpha$ -benzopireno presente en el humo del tabaco. Es un mutágeno indirecto, ya que debe ser biotransformado previamente a su metabolito epoxi para ejercer su acción genotóxica. Este último tiene gran afinidad por el ADN, con el que forma fácilmente aductos (Rodríguez, 1993). Se han descrito tumores de pulmón y piel (cara, manos, escroto) en trabajadores expuestos directamente a este tipo de sustancias.

Los niños son potencialmente una población de riesgo debido a que son especialmente vulnerables debido a que sus mecanismos de desintoxicación no están completamente desarrollados y sus órganos están en formación. Además están más expuestos que los adultos; un niño menor de cinco años consume tres a cuatro veces más comida y bebe más agua y zumos que un adulto por unidad de peso corporal.

En un estudio realizado en Minneapolis se analizó la concentración de once COVs en sangre en una muestra de 150 niños comprobando que la concentración de estos compuestos excedió a la de los adultos incluyendo fumadores (Sexton et al 2005).



En España la red INMA (infancia y medio ambiente) está llevando a cabo un estudio sobre los efectos de contaminantes entre los que se analizan los COVs sobre 3600 mujeres desde el inicio del embarazo hasta los 4-6 años de edad (Ramon et al, 2005) (Gac Sanit vol.21 no.2 Barcelona Mar./Apr. 2007) . Otra causa muy importante de contaminación en ambientes interiores surge de los residuos de la combustión. El monóxido de carbono es un gas incoloro, inodoro que como es bien sabido, causa la muerte en niveles ligeramente altos. Sin embargo, menos conocido es el hecho de su gran toxicidad en dosis mucho más bajas, donde puede tener serios efectos en funciones cognitivas superiores tales como la memoria, la concentración y el razonamiento. La exposición crónica del monóxido de carbono también puede resultar en sensibilidades químicas múltiples ya que interfiere con los métodos de desintoxicación en el hígado causando una sobrecarga tóxica.

En la UE, las emisiones del tráfico han bajado entre 1990 y 2000 cerca del 21% de NOx, 36% de CO, 38% de compuestos orgánicos volátiles no metano (COVMN), y 43% de SO<sub>2</sub>. Este alentador e importante resultado es la consecuencia de la introducción de los escapes catalíticos, de la renovación de los vehículos, y de la utilización de carburantes que contaminan menos el ambiente. Sin embargo actualmente, la mayoría de la población europea está expuesta a niveles de contaminación mucho más elevados del límite tolerable.



Los estudios realizados sobre los niños son muy variados y nos muestran los efectos relativos a enfermedades respiratorias agudas, pero también los efectos relativos a problemas respiratorios menos graves como la tos y el catarro. Estos efectos son más evidentes en los niños, con predisposiciones al asma y a las alergias por lo que probablemente podemos concluir que las alergias al ambiente se vuelven más agudas a causa de los agentes contaminantes del aire





## Reemplazo de disolventes:

Los disolventes orgánicos están hoy día presentes en numerosísimos productos tanto industriales como de consumo diario, como pinturas, tintes, cosméticos, limpiadores tanto domésticos como industriales, y por supuesto en los combustibles. Asimismo, juegan un papel fundamental en los procesos químicos, tanto para disolver reactivos, como para facilitar procesos de aislamiento y purificación, o inclusive para lavar el material de laboratorio una vez utilizado. De todo lo dicho queda patente la necesidad de minimizar la exposición humana a disolventes, por lo que el estudio de diferentes sistemas de reemplazo de los mismos con medios de reacción alternativos constituye un campo apasionante de trabajo.

para que se pueda producir un reemplazo eficiente, el disolvente alternativo tiene que cumplir una serie de condiciones:

Debe disolver los materiales de partida y los reactivos.

Debe ser inerte, y no interferir en la reacción deseada.

Debe, a ser posible, tener un efecto positivo en la velocidad de reacción.



## **asimismo debe superar las siguientes cuestiones:**

¿Cómo de eficiente es la reacción en el nuevo disolvente.? Las reacciones colaterales indeseadas, que conducen a subproductos, ¿se ven eliminadas o al menos disminuidas con el uso del nuevo disolvente.?

¿Es el disolvente no tóxico, o al menos presenta una toxicidad disminuida con respecto al disolvente que pretende reemplazar.?

¿Representa el disolvente una disminución del riesgo de contaminación medioambiental.?

¿Tiene una volatilidad adecuada, que conduzca a un riesgo menor de emisión y/o de exposición.?

¿Es soluble en agua? Si efectivamente lo es, ¿este hecho simplifica o complica el aislamiento y purificación de los productos de interés.? ¿Origina el disolvente alternativo complicaciones a la hora del reciclado.?

¿Es soluble en disolventes apolares.? Si efectivamente lo es, ¿implica un riesgo de acumulación en grasas o tejidos humanos.?

¿Es biodegradable? Si efectivamente lo es, ¿son inocuos sus metabolitos.?

¿Se puede disponer del disolvente puro, o contiene impurezas nocivas.?

Es claro que **muchas de estas preguntas son de difícil respuesta**, sobre todo a la hora de decidir si un disolvente alternativo puede ser inocuo para la salud, si no existen suficientes datos bibliográficos al respecto. En la actualidad, no obstante, **existen TRES ALTERNATIVAS SOSTENIBLES**, de menor a mayor novedad, que pasaremos a explorar.

### 1) Uso de Disolventes Convencionales más Sostenibles.

Esta alternativa consiste en sustituir los disolventes empleados por otros, también convencionales, pero que representen un menor riesgo de toxicidad, una menor volatilidad, y que se puedan reciclar fácilmente.

En este sentido, a nivel de reducción de toxicidad, los parámetros fisicoquímicos a los que habría que prestar especial atención son:

- **la volatilidad** (cuantificada a través de la velocidad de evaporación referida al acetato de butilo, y el “punto flash”);
- **la solubilidad en agua** (para poder minimizar problemas de vertidos accidentales); el coeficiente de partición en un sistema n-octanol/agua (conocido como  $\log P$ ), que nos dará idea de la facilidad para atravesar membranas con la consecuente bioacumulación;



• **el umbral odorífero** (capacidad de detectar un disolvente a través del sistema olfativo, en el entorno generalmente de ppm).

Por lo que respecta al **impacto medioambiental**, podemos utilizar diferentes parámetros, tales como **la vida media del disolvente en la atmósfera, la capacidad de contribuir a la formación de ozono troposférico, y la escala de tiempos de su biodegradación.**

Finalmente, y de manera cuantitativa, indicaremos que, en Estados Unidos de Norteamérica, la Agencia Nacional de Protección de Incendios (NFPA) asigna un ranking de riesgos para la salud, de riesgos de inflamación y de riesgos de relatividad que va desde 0 a 4, siendo el nivel 0 el más seguro; por otra parte, también en el mismo país la Administración de Seguridad y Salud en el Trabajo (OSHA) establece lo que se llaman los límites permisibles de exposición (PEL).

De forma general, comentaremos algunas de estas sustituciones:

- Se consideran que los **alcoholes** son disolventes relativamente seguros, especialmente si los comparamos con otros disolventes orgánicos. En este sentido, etanol e iso-propanol son las mejores opciones.



- Por otra parte se recomienda sustituir **benceno** por **tolueno o xileno**, que aunque pueden originar similares problemas de salud si se produce una acumulación o un contacto con la piel, son menos volátiles y no parecen presentar problemas de carcinogénesis (en este sentido, la ruta metabólica que transforma el benceno en ácido mucónico para el tolueno conduce al ácido benzóico, que es inocuo).
- El reemplazo de hidrocarburos halogenados por disolventes más sostenibles es complicado. En este sentido, el “**menos malo**” de todos ellos sería el **diclorometano**.

Los **éteres** se pueden reemplazar por **poliéteres** (como por ejemplo el 1-metoxi-2(2-metoxietoxi)etano (éter metoxietílico o diglime)), que presentan una mucho menor volatilidad y toxicidad, manteniendo la excelente capacidad de solubilización de compuestos orgánicos.

Por lo que respecta a los disolventes polares apróticos, éstos pueden ser reemplazados por otros que presenten menor toxicidad, como por ejemplo acetato de etilo, 1,3-dimetil-6,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidin-2-ona (DMPU, dimetilpropilenurea), 1-metil-2-pirrolidinona (NMP), o el carbonato de propileno

**Estas sustituciones no son sin duda la mejor solución, pero al menos suponen un primer paso que se puede hacer inmediatamente y sin ninguna implementación de tecnología adicional.**

## 2) *Diseño de Nuevos Disolventes*

El diseño de nuevos disolventes y medios de reacción constituye una de las fronteras de la Química Sostenible o (**Green Chemistry**). Comentaremos brevemente algunos aspectos de interés.

**Química Verde-** El diseño de los productos químicos y procesos que reducen o eliminan el uso y la generación de sustancias peligrosas

La Química Verde ofrece un fundamento práctico para el concepto de sostenibilidad

**PRACTICAL**

**Green Chemistry & Engineering**  
**The Life cycle assessment**

**Pollution prevention**

**Sustainability**



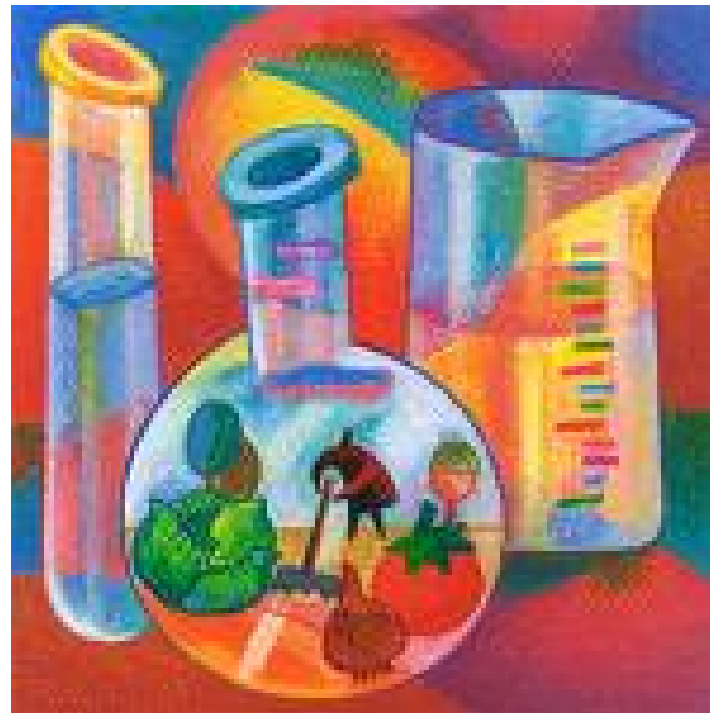
**CONCEPT**

Prof. J. M. Sánchez-Montero, Grupo de Biotransformaciones, Facultad de Farmacia, UCM



**Ingeniería Verde.** El diseño, la comercialización y el uso de procesos y productos que sean viables y económicos, mientras que se minimiza la generación de la contaminación en la fuente así como el riesgo para la salud humana y el medio ambiente.

**Vida - ciclo de evaluación:** Un proceso objetivo para evaluar el impacto medioambiental las cargas asociadas a un producto, proceso o actividad mediante la identificación de la energía y los materiales utilizados y los desechos liberados al medio ambiente, utilizados para evaluar e implementar oportunidades de mejoras para el medio ambiente.



# PRINCIPIOS DE LA QUÍMICA SOSTENIBLE



- 1) Es mejor prevenir la formación de residuos que tratarlos o eliminarlos tras su formación
- 2) Los métodos sintéticos deben ser diseñados para conseguir la máxima incorporación en el producto final de todas las materias usadas en el proceso
- 3) En tanto sea posible, se deben diseñar metodologías sintéticas para el uso y la generación de sustancias de escasa toxicidad humana y ambiental
- 4) Se deben diseñar productos químicos que, preservando la eficacia de su función, presenten una toxicidad escasa.
- 5) Las sustancias auxiliares (disolventes, agentes de separación, etc.) deben resultar innecesarias en lo posible o cuanto menos deben ser inocuas
- 6) Las necesidades energéticas deben ser consideradas en relación a sus impactos ambientales y económicos y minimizadas. Los métodos de síntesis deben llevarse a cabo en condiciones de temperatura, ambiente y presión atmosférica.
- 7) Las materias de partida deben ser renovables y no extinguidas, en la medida en que esto sea posible técnica y económicamente.





## PRINCIPIOS DE LA QUÍMICA SOSTENIBLE (CONT)

8) La formación innecesaria de derivados (bloqueo de grupos, protección/desprotección, modificación temporal de propiedades químicas o físicas) debe ser evitada en tanto sea posible.

9) Los reactivos catalíticos deben ser tan selectivos como sea posible.

10) Los productos químicos han de ser diseñados de manera que al final de su función no persistan en el medio ambiente, sino que se fragmenten en productos inocuos para el medio ambiente.

11) Se deben desarrollar las metodologías analíticas que permitan el seguimiento en tiempo real del proceso y el control previo de la posible formación de sustancias peligrosas.

12) Las sustancias y las formas de su uso en un proceso químico deben ser elegidas de manera que resulte mínima la posibilidad de accidentes químicos incluyendo emisiones, explosiones e incendios.

*R. Mestres. Hacia la calidad ambiental a través de la Química. An.Quim. 99, 58-65 (2003)*

## ***2) Diseño de Nuevos Disolventes***

La búsqueda de disolventes con menor toxicidad ambiental y menor volatilidad es una tarea de vital importancia. En este sentido, puede llegar a ser razonable llevar la cabo la síntesis de novo de nuevos disolventes (en lugar de emplear los métodos tradicionales de aislamiento de fuentes naturales), si el aumento de sostenibilidad del proceso es muy elevado. Por ejemplo, el empleo de lactato de etilo (obtenido a través de procesos de fermentación biodegradable y fácilmente reciclable) como disolvente de polímeros y resinas supone una alternativa excelente. O por ejemplo, el reemplazo de acetona por 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona permite mantener las características de la primera (alta capacidad de solubilización de muchos productos orgánicos, y miscibilidad con el agua), con una disminución sustancial de la volatilidad del disolvente.



Por lo que respecta a los **CFCs**, existe la posibilidad de reemplazarlos por hidrocarburos fluorados (HFCs), que siguen manteniendo las capacidades de los primeros en su uso como agentes refrigerantes, pero no conducen a la destrucción del ozono estratosférico y son más seguros.

Por obvias razones, el *agua* se considera el disolvente sostenible por antonomasia, pero su uso como disolvente en reacciones orgánicas es muy limitado por razón de la escasa solubilidad de la mayoría de los compuestos orgánicos en disoluciones acuosas.

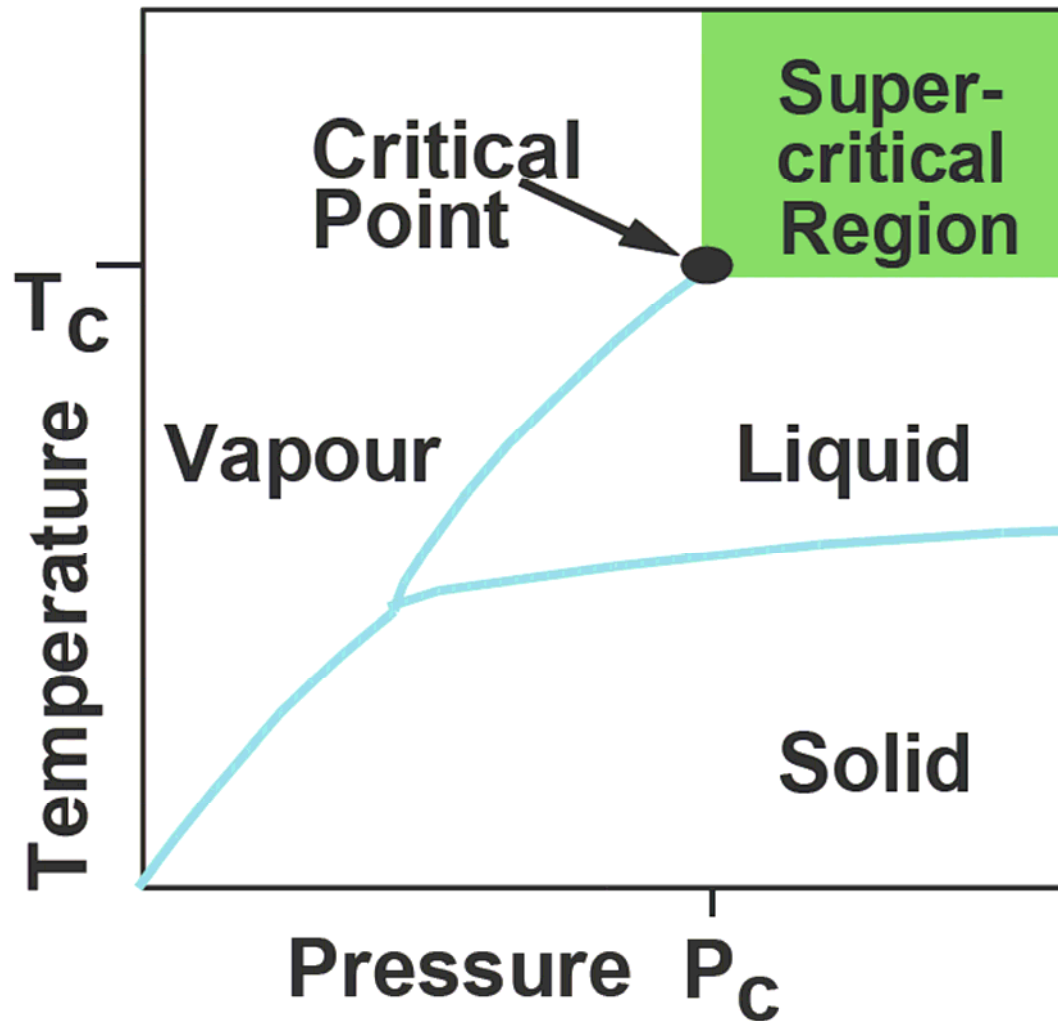
Además, muchos reactivos comunes para un químico orgánico (cloruro de tionilo, compuestos organometálicos, ...) son incompatibles del todo punto con agua. No obstante, se han hecho ingentes esfuerzos en este campo (**Li y Chan, 1997; Lindström, 2002**), y por ejemplo, se han descrito adiciones a aldehídos de equivalentes a los compuestos de Grignard (magnesianos) empleando medio acuosos y sustituyendo el magnesio por indio (**Li y Chan, 1991**), o antimonio (Li y Chan, 2000), o hidrogenaciones conjugadas de compuestos carbonílicos  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados en medios acuosos catalizadas por análogos de catalizadores de Wilkinson (**Grosselin y cols, 1991**).



Recientemente está cobrando fuerza el empleo de fluidos supercríticos y líquidos iónicos como nuevos disolventes. En el caso de los primeros, se definen como gases que se han comprimido y calentado de modo que muestren propiedades de líquido y de gas al mismo tiempo, al superar lo que se conoce como el punto crítico. El CO<sub>2</sub> supercrítico es el más empleado, pues las condiciones de su punto crítico (73 atm de presión y 31.1° C) son fáciles de alcanzar. La ventaja de su empleo se centra en su gran capacidad de disolución de diferentes compuestos orgánicos y su gran facilidad de eliminación simplemente por disminución de la presión del sistema, por lo que vuelve al estado gaseoso sin dejar trazas.

- En este estado, la línea de separación de fases líquido-gas se interrumpe. Esto implica la formación de una sola fase (fig. 1) en la que el fluido tiene propiedades intermedias entre las de un líquido y las de un gas: así pues, mientras se mantiene una gran difusividad (propia de los gases), se consigue una alta densidad (cercana a la de los líquidos).

# What is a Supercritical Fluid?



# VENTAJAS

- **Utiliza condiciones suaves (especialmente importante en compuestos termolábiles)**
- **Mayor pureza del extracto: el CO<sub>2</sub> al convertirse en gas se elimina prácticamente por completo sin dejar residuos en el extracto. Además es inocuo, a diferencia de la mayoría de disolventes industriales.**
- **Mayor rendimiento del proceso: el CO<sub>2</sub> supercrítico penetra mejor en el interior de la matriz; además el soluto, una vez extraído, se recupera totalmente (su solubilidad en el gas es nula)**
- **La modulación del poder solvatante permite la extracción y recuperación selectiva de diferentes productos.**
- **Respeto al medio ambiente: evita el uso de disolventes clorados y no produce efluentes que deban tratarse posteriormente.**



# APLICACIONES

- Dada la relación directa entre la densidad de un fluido con su poder solvatante, tenemos que los fluidos supercríticos pueden variar enormemente su capacidad de solvatación mediante pequeñas variaciones en la presión y/o temperatura.
- Teniendo en cuenta estas características, los FSC se convierten en disolventes ideales puesto que su enorme difusividad les permite penetrar perfectamente a través de matrices porosas y su capacidad de solvatación modulable les permite una gran versatilidad y selectividad según las condiciones de presión y temperatura a las que se sometan. Sus aplicaciones principales son pues:
  - extracción (especialmente de productos naturales): no deja residuos, se obtienen extractos de alta pureza y no requiere altas temperaturas
  - precipitación: obtención de cristales con morfología muy uniforme, alta pureza y libres de residuos de disolvente
  - medio de reacción: la existencia de una sola fase permite una óptima transferencia de masa y de energía.

# LÍQUIDOS IÓNICOS COMO DISOLVENTES.

Los líquidos iónicos son sales orgánicas que son líquidas a temperatura ambiente, y están formadas de forma genérica por un anión orgánico o inorgánico (fluoroborato, acetato, cloruro, hexafluotrofosfato, ...) y un catión consistente en un compuesto orgánico nitrogenado tipo imidazolio o piridinio, fundamentalmente. Este tipo de compuestos pueden disolver muchos compuestos orgánicos, son esencialmente no volátiles y pueden usarse hasta temperaturas en torno a 300°C, lo que les confiere una alta versatilidad, y por tanto su utilización parece muy interesante (Andrade y cols, 2005; Jastorf y cols, 2005), aunque todavía hay que profundizar en el estudio de su biodegradabilidad (García y cols, 2005).

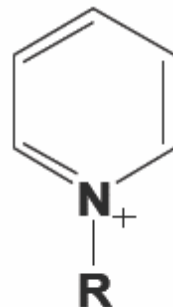
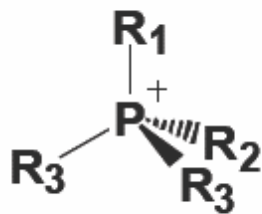
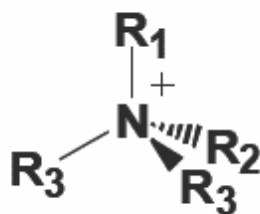
## LÍQUIDOS IÓNICOS COMO DISOLVENTES SOSTENIBLES

- "Sales" líquidas a temperaturas  $< 100\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Presión de vapor muy baja
- No explosivas
- Térmicamente estables (hasta  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
- Viscosidad entre 50 y  $> 600\text{ mPas}$
- Disolventes versátiles  
disuelven gran cantidad de compuestos  
forman dos fases con algunos disolventes  
y sustratos o productos

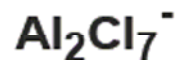
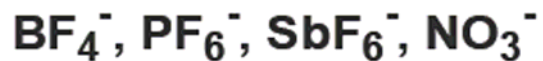




## CATIONS

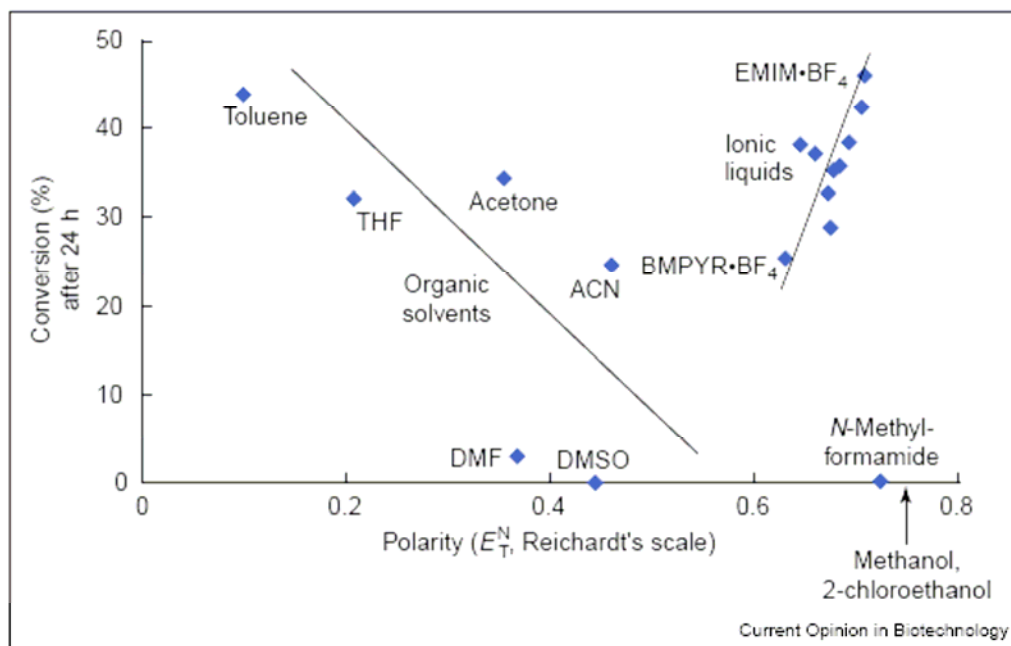


## ANIONS



La polaridad de un líquido iónico típico, como [BMIm][BF<sub>4</sub>], está en el intervalo de 0.6-0.7 (similar alcoholes pequeños o DMF) sobre la escala de polaridad normalizada, que da cero al tetrametilsilano y 1.0 al agua. Los efectos del grupo alquilo sobre el anillo de imidazol (C4-C8) y el anion (tetrafluoroborato, hexafluorofosfato, bis (trifluorometanesulfonil) amida) sobre la polaridad parecen ser ligeros y depende del método elegido.

Figure 3



Conversion of *Pseudomonas cepacia* lipase (PCL)-catalyzed reactions as a function of solvent polarity. PCL shows no activity in organic solvents with  $E_T^N = 0.6-0.8$ , but is active in ionic liquids. ACN, acetonitrile; DMF, dimethyl formamide; DMSO, dimethyl sulfoxide; THF, tetrahydrofuran.  $E_T^N$  = Reichardt's normalized scale of solvent polarity (water = 1; trimethylsilane = 0).

### **3) Diseño de Procesos sin Disolventes**

Sin duda esta sería la mejor opción. Si atendemos al papel de los disolventes en una reacción química (favorecer la mezcla íntima de los reactantes, facilitar la separación y purificación de los productos de reacción, y dispersión de energía en los procesos exotérmicos), podemos pensar que en ciertas reacciones se puede prescindir de ellos, como en reacciones entre sólidos, entre gases y sólidos, o bien directamente en fase gaseosa. Diferentes ejemplos de este tipo de procesos ya han sido descritos (**Metzger, 2001**), y sin duda representan la mejor alternativa para la eliminación de la emisión de COVs al medio.

# REACH

## Evaluación de Seguridad Química: Salud Humana

**Esther Martín de Dios.**  
Ministerio de Sanidad y Consumo

# Evaluación de Seguridad Química

- Introducción.
- El Informe de Seguridad Química.
- Etapas:
  - Evaluación peligros para la salud humana:
    - Identificación del Efecto
    - Determinación del DNEL
  - Evaluación de la exposición:
    - Escenarios de Exposición
  - Caracterización del riesgo
- Evaluación de Seguridad Química del usuario.

# Objetivos REACH

- Aumentar la protección de la salud humana y medio ambiente frente a químicos.
- Mejorar la competitividad de la industria.
- Promover uso de métodos alternativos.
- Asegurar la libre circulación de sustancias en la UE.

# Registro

- Obligatorio para F/I de sustancias: **1 T/año**
- Recopilar información
- Establecer medidas de control del riesgo
- Recomendar medidas de control del riesgo.

# Solicitud de Registro

1. Expediente Técnico:  $> 1$  T/año
2. Informe sobre la Seguridad Química:
  - Sustancia fabricada/importada  $> 10$  T/año



# Informe de Seguridad Química

- Objetivo: Herramienta para informar de resultados de la Evaluación de la Seguridad Química. Conocer y valorar la naturaleza y la extensión de los riesgos.
- Obligación: Sustancia fabricada/importada > 10 Ton/año, para todos los usos identificados.
- Contenido: Contiene los elementos e información utilizada para la ESQ (Anexo I).
- Metodología: basada en la evaluación de riesgo.

# Evaluación Seguridad Química

- Herramienta para determinar:
  - si los riesgos están controlados,
  - que medidas de control de riesgo son necesarias para la protección de la salud o del medio ambiente.
- La realiza:
  - el F/I para todo uso identificado.
  - el usuario, si el uso no ha sido identificado.

# Etapas

1. Evaluación de los peligros para salud humana.
2. Evaluación de los peligros por las propiedades físico-químicas.
3. Evaluación de los peligros para el medio ambiente.
4. Evaluación PBT o MPMB.

Si como resultado resulta clasificada como peligrosa (Dir. 67/548/CEE o 1999/45/CE) o PBT o MPMB, entonces:

5. Evaluación de la Exposición:
  - a) Elaboración de los Escenarios de Exposición
  - b) Cálculo de la Exposición.
6. Caracterización del Riesgo



# Evaluación Peligro Salud Humana

- **Objetivos:**
  - Determinar la clasificación y etiquetado (Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE),
  - Obtener DNEL (*Derived No-Effect Level*).
  
- **Información disponible:**
  - Datos en humanos
  - Ensayos en animales
  - Ensayos in vitro,
  - Otros: QSAR, extrapolación o agrupación de sustancias.

# Efectos potenciales:

- Agudos:
  - Toxicidad aguda,
  - Irritación,
  - Corrosividad.
- Sensibilización
- Toxicidad por dosis repetida
- Efectos CMR:
  - Carcinógenos
  - Mutagénicos
  - Toxicidad para la reproducción.

# Requisitos de información

+ 1 T (Anexo VII)	Fuera fase transitoria	- propiedades físico-químicas; Toxicidad aguda, sensibilización, Irritación <i>in vitro</i> , Mutagénesis <i>in vitro</i>
	Fase transitoria	- Cumple algún criterio del Anexo III: Anexo VII - Resto: propiedades físico-químicas (Anexo VII)
+10 T (Anexo VIII)	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Toxicidad aguda, irritación <i>in vivo</i>, toxicocinética;</li> <li>■ Dosis repetida, 28 Días;</li> <li>■ Toxicidad para la reproducción y desarrollo (screening);</li> <li>■ Mutagénesis: <i>in vitro</i>.</li> </ul>	
+100 T (Anexo IX)	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Dosis repetida, 90 Días;</li> <li>■ Toxicidad para desarrollo prenatal (1 especie)/ toxicidad para el reproducción en dos generaciones (1 especie);</li> <li>■ Mutagénesis: <i>in vivo</i>, células somáticas.</li> </ul>	
+ 1000 T (Anexo X)	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Crónico-carcinogénesis;</li> <li>■ Mutagénesis: <i>in vivo</i>, células germinales</li> </ul>	

# DNEL

- Nivel máximo de exposición de las personas a una sustancia: “Nivel determinado sin efecto”
  
- 1 sustancia: 1 DNEL, varios DNEL.
  - Poblaciones (trabajadores, consumidores)
  - Rutas
  - Duración y frecuencia de exposición
    - DNEL Largo plazo
    - DNEL Corto plazo
  - Exposición combinada
  - Efectos sistémicos y efectos locales.



# Obtención del DNEL

1. Identificación del NOAEL
2. Obtención del punto de inicio adecuado
3. Aplicación del Factor de Evaluación Global
4. Selección del DNEL para la caracterización del riesgo



<b>Factor de Evaluación</b>		<b>Valor preestablecido</b>
<b>Interespecies</b>	- Corrección por diferencias en metabolismo por peso corporal	4 (rata)*
	- Diferencias restantes	2.5
<b>Intraespecies</b>	- Trabajador	5
	- Población general	10
<b>Duración exposición</b>	- Subagudo a subcrónico	3
	- Subcrónico a crónico	2
	- Subagudo a crónico	6
<b>Extrapolación ruta-ruta</b>	-diferencias entre la ruta de exposición del ensayo y la humana	1*
<b>Dosis-respuesta</b>	-Severidad del efecto -Punto de partida -pendiente de la curva	1**

\*consideradas en paso 2

\*\*posibles desviaciones si se trata de LOAEL

# Cálculo del DNEL

El factor de evaluación global se obtiene por multiplicación de todos los factores individuales y se aplica directamente al N(L)OAEL:

$$\text{DNEL} = \frac{\text{N(L)OAEL}}{\text{FE}_1 \times \text{FE}_2 \times \dots \times \text{FE}_n} = \frac{\text{N(L)OAEL}}{\text{FE Total}}$$

# Evaluación de la Exposición

- Objetivo:
  - estimación de la exposición para todos los usos y todas las poblaciones
  
- Etapas:
  - Elaboración de los Escenarios de Exposición
  - Cálculo de la Exposición.
  
- Requisito de la ESQ, cuando:
  - Sustancia clasificada como peligrosa (Directivas 67/548 o 1999/45) o,
  - PBT o MPMB.

# Escenarios de Exposición

## Artículo 3 (37) – Anexo I:

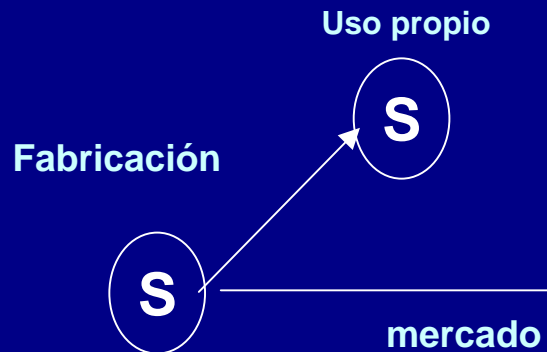
- *Un escenario de exposición es el conjunto de condiciones que describen la manera en que se fabrica o usa una sustancia durante su ciclo de vida, y el modo en que el F/I controla o recomienda a los usuarios controlar la exposición de los humanos y el m. ambiente...*
- *Pueden incluir un uso o varios (categorías de exposición)*
- *Se incluirá una descripción de:*
  - *...procesos implicados...*
  - *...medidas de gestión del riesgo aplicadas...*
  - *... medidas de gestión del riesgo recomendadas a los usuarios por el fabricante...*

# Escenarios de Exposición

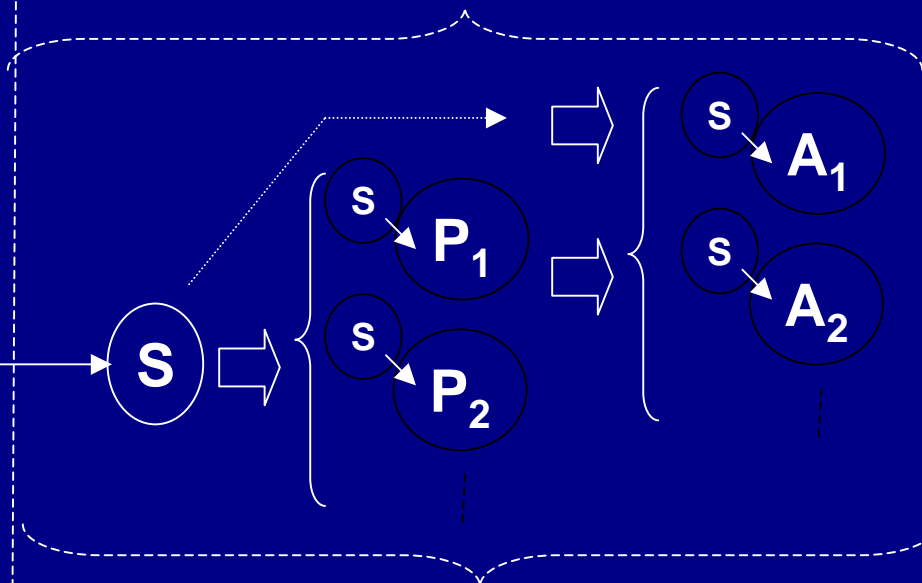
- Conjunto de condiciones/información que describen:
  - Como se fabrica o usa la sustancia.
  - Como se controla la exposición del ser humano/medio ambiente.
- Se elaboran para todos los usos de la sustancia en su ciclo de vida:
  - Fabricación.
  - Uso propio por fabricante e importador.
  - Usuarios intermedios y finales.

# Ciclo de vida S. química

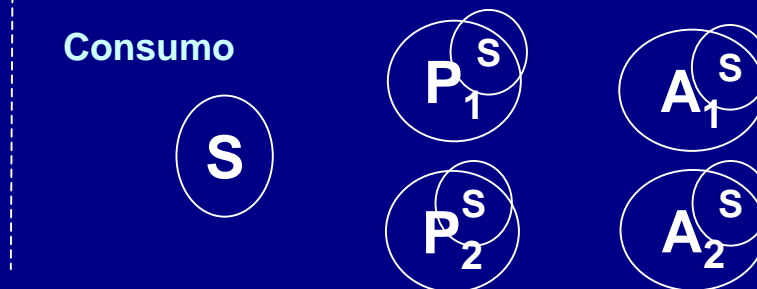
Fabricante/Importador



Uso industrial/  
profesional



Consumo



**S** Sustancia

**P** Preparado

**A** Artículo

# Desarrollo de EE

1. Identificación de los usos.
2. Descripción del proceso de fabricación/uso.
3. Elaboración del EE inicial.
4. Valoración de la exposición y del riesgo.
5. Definición del EE final. ISQ.
6. Elaboración del Anexo a la FDS.



# 1. Identificación de los usos

- Información general:
  - Uso
  - Determinantes de la exposición
  - Medidas de gestión de riesgo y eficacia
- Obtención de información:
  - Información propia
  - Información publicada
  - Comunicación con los usuarios

## 2. Descripción del uso

- Descripción técnica de condiciones de uso:
  - Descripción del proceso de fabricación/uso.
  - Condiciones de uso, tareas, duración y frecuencia.
  - Medidas de gestión de riesgo implantadas: medidas relacionadas con la sustancia, técnicas colectivas, organizativas o protección personal.
  
- Cualquier información relevante:
  - estado físico, propiedades físico-químicas etc.

# 3. Elaboración del EE inicial.

- Todos los usos identificados.
- Usos similares agrupados en un escenario.
- Momentos más relevantes, exposiciones más altas.
- Nivel de detalle → Magnitud riesgo

# 4. Valoración de exposición y riesgo

- Estimación exposición externa. Rutas.
- Datos reales de exposición:
  - Representativos:
    - Duración, frecuencia y vías de exposición.
    - Proceso tecnológico.
    - Prácticas y hábitos de trabajo.
    - Medios de control presentes.
  - fiables:
    - Estrategia y procedimientos de muestreo.
    - Método analítico.
- Datos de modelos teóricos.

# Caracterización del Riesgo

$$\text{RCR} = \frac{\text{Nivel de Exposición}}{\text{DNEL}}$$

Exposición < DNEL → riesgo controlado

Exposición > DNEL → riesgo NO controlado

Proceso reiterativo

## 5. Definición del EE final. ISQ.

- Escenario de Exposición Final → Riesgo adecuadamente controlado:
  - Condiciones operativas
  - Medidas de reducción de riesgo
- Se describe en el Informe de Seguridad Química: epígrafe 9.1

## 6. Anexo a la FDS

# ISQ - Usuario

- Demostrar riesgos derivados del uso están controlados.
- Notificar el uso a la Agencia
- ESQ, Anexo XII :
  - Información sobre los peligros FDS (proveedor).
  - Elaborar Escenarios de Exposición para su uso y el de sus clientes.
  - Efectuar caracterización del riesgo
  - Adjuntar Escenarios de Exposición Finales en la FDS que trasladará a sus clientes.

# Excepciones ISQ (Usuarios)

- F/I no tiene obligación de transmitir FDS.
- F/I no tiene obligación de presentar ISQ.
- Uso de una cantidad  $< 1$  T/año.
- EE aplicados semejantes a otros descritos en FDS.
- Concentración en preparados  $<$  límites.
- Uso para IDOPP.



# Información:

- <http://ecb.jrc.it/reach/rip/>
- <http://echa.europa.eu/>

## RIP 3.2. Guías para :

- Preparar ESQ y EE que cubran a trabajadores, consumidores y medio ambiente.
- Documentar la evaluación y los EE en el ISQ.
- Comunicar la información a través de la FDS.

## ASPECTOS GENERALES DE LA PUESTA EN MARCHA DEL REACH

Programa, registro, evaluación, autorización y restricción de las sustancias y de los preparados químicos. REACH

# ASPECTOS GENERALES DE LA PUESTA EN MARCHA DEL REACH (GUIÓN)

## INTRODUCCIÓN:

- Reglamento complejo (sustituye a unas 40 normas), denso y con redacción enrevesada...
- 141 artículos + 17 anexos...
- Puesta en marcha muy gradual: 1.06.07→1.06.08→31.05.18
- Se basa en el principio de precaución...
- Se espera que produzca un gran incremento de la información disponible sobre los efectos peligrosos de las sustancias.
- Va a suponer un gran esfuerzo de todas las partes implicadas pero también una gran oportunidad...

## PASO 0: PREPARACIÓN/conocimiento y adaptación

### PASO 1: Comienzo del cumplimiento/obligaciones vigentes

® PRERREGISTRO...

⊘ RESTRICCIONES...

ⓘ INFORMACIÓN EN LA C. S.

## CONCLUSIONES/PROPUESTAS



# PREPARACIÓN: conocimiento y adaptación








- Publicación 30.12.06 → En vigor 1.06.07 → Inicio registro 1.06.08
- Creación de la Agencia (ECHA-Helsinki)
- Designación de AACCC en los EEMM (MSC/MA, CCAA ¿?)
- Adecuación de los recursos necesarios de las AACCC...
- Información sobre la puesta en marcha del REACH:
  - Agencia (<http://echa.europa.eu>)
  - AACCC (<http://reachinfo.es>)\*
  - Otros agentes (CC, feique, asociaciones prof., etc.)

\* Los órganos de control oficial no deberían asesorar a las empresas (inspectora ≠ consultora) pero las AACCC si deben liderar/coordinar la información y buscar alianzas y colaboración de otros agentes.



# PREPARACIÓN: conocimiento y adaptación

## Por parte de las empresas:

-  Elaborar un inventario de las sustancias que utilizan como tal o contenidas en preparados o en artículos.
-  Para cada sustancia definir si es fabricante, importador o usuario intermedio.
-  Identificar cada sustancia por N° CAS, EINECS o ELINCS.
-  Identificar el volumen anual, de fabricación, importación o uso, por sustancia.
-  Recopilar la información disponible sobre propiedades, clasificación, restricción, exposición, efectos...
-  Identificar los proveedores, clientes y sus usos...
-  Analizar posibles exenciones y plazos para el registro de cada sustancia.



# REGISTRO ® PRERREGISTRO (1)

- ® Deben registrar los fabricantes o importadores de  $\geq 1$ Tn. de sust. como tales, en preparados o en artículos si se van a liberar, en la ECHA
- ® Las sust. activas de fitosanitarios y biocidas se consideran "ya registradas"
- ® Las notificaciones de sust. (Directiva 67/584/CEE) se consideran como solicitudes de registro.
- ® Los productores o importadores de artículos con sust.  $\geq 0,1\%$  deben notificarlas a la ECHA.
- ® A partir de 1.06.08 ® sust. nuevas
- ® A partir de 1.12.08 ® sust. existentes no prerregistradas
- ® Hasta 30.11.10 ® sust. existentes prerregistradas:  $\geq 1000$ Tn + muy tóxicas para los organismos acuáticos  $\geq 100$ Tn + CMR cat. 1y2  $\geq 1$ Tn
- ® Hasta 31.05.13 ® sust. existentes prerr.  $\geq 100$ Tn
- ® Hasta 31.05.18 ® sust. existentes prerr.  $\geq 1$ Tn
- ® El objetivo del prerregistro es conectar a los potenciales registradores de una sustancia para poner en común la información y así evitar ensayos innecesarios y reducir los costes.



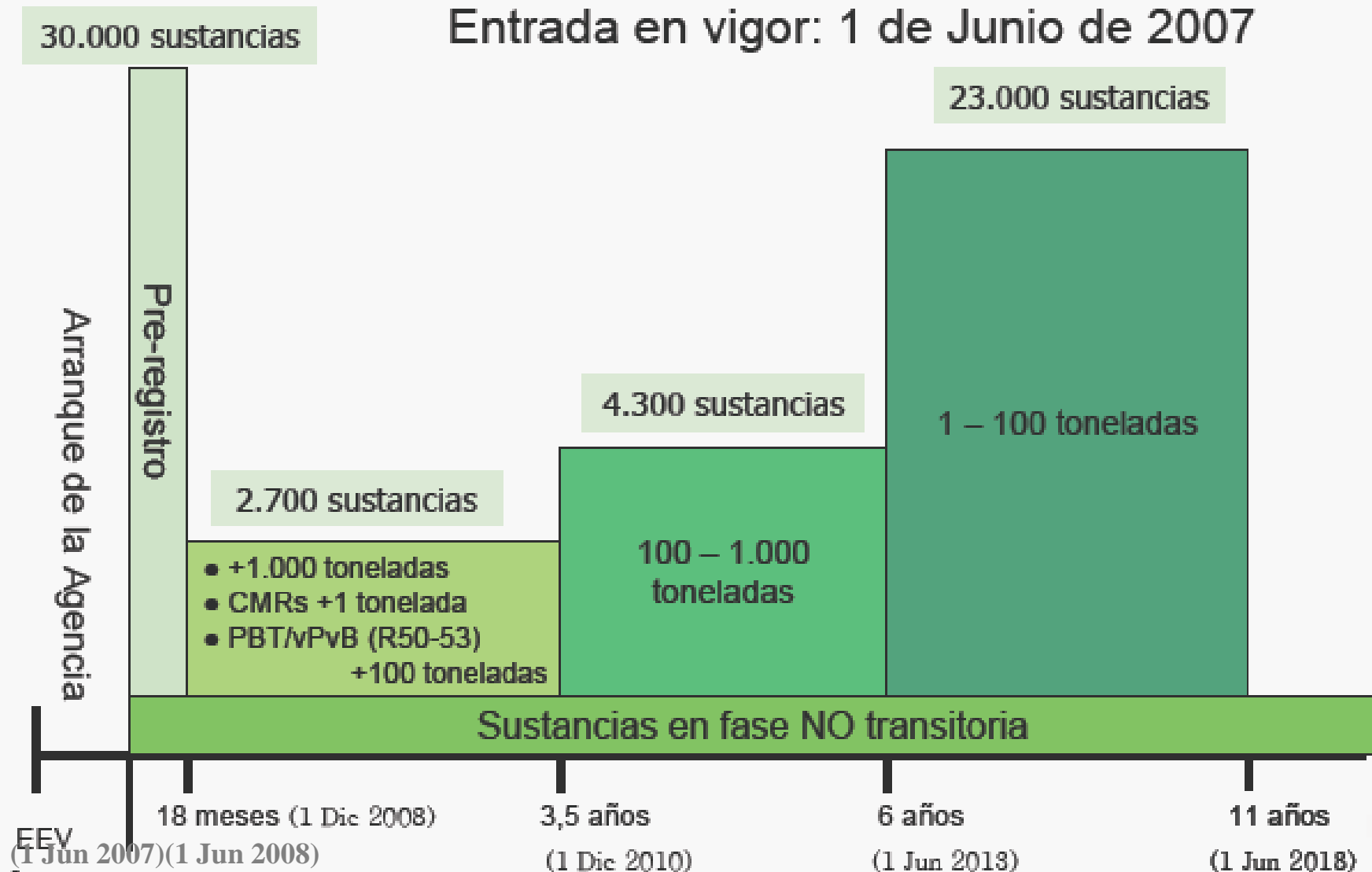
# REGISTRO ® PRERREGISTRO (2)

- ® Prerregistro de 1.06.08→1.12.08 Fabricantes o importadores de sustancias en fase transitoria:
  - Existentes en el EINECS
  - Fabricadas pero no comercializadas en la UE después de 1.06.92
  - Ex polímeros (notificadas...)
- ® Información a presentar: en línea/reach-it o IUCLID 5 o XML
  - Identificación de la sustancia, nombre, nº EINECS y CAS...
  - Identificación del solicitante, contacto/representante legal
  - Plazo de registro previsto e intervalo de tonelaje previsto
  - Otros identificadores del grupo de sustancias...
- ® Publicación de la lista de sust. prerr. antes del 1.01.09 en la web-echa
- ® Si un usuario intermedio está usando una sustancia no prerregistrada lo podrá notificar a la ECHA y esta lo podrá poner en contacto con un posible solicitante de registro...
- ® Todas las empresas que prerregistren la misma sustancia pasan a formar parte de un foro de intercambio de información (FIIS)



# REGISTRO@PRERREGISTRO/CALENDARIO

Entrada en vigor: 1 de Junio de 2007





# RESTRICCIONES A LA FABRICACIÓN, COMERCIALIZACIÓN Y USO DE DETERMINADAS SUSTANCIAS, PREPARADOS Y ARTÍCULOS PELIGROSOS

- ⊘ Entran en vigor el 1.06.09 pero todas las que están en el Anexo XVII ya estaban afectadas por la Directiva 76/769/CE→R.D. 1406/1989 sobre Limitaciones a la comercialización y uso de ciertas sustancias...
- ⊘ 52 entradas al anexo (algunas son 1 sust. y otras un grupo): 977 Carc., 176 Mut., 83 Rep., 22 c. azoicos, 9 creosotas, 8 HAP, 6 Ftalatos, nonilfenol y sus etoxilatos, cadmio, etc. (±1300)
- ⊘ Los EEMM pueden mantener restricciones más estrictas vigentes hasta 1.06.13 previa notificación y aprobación por la Comisión
- ⊘ Se ampliará el anexo XVII con sust. Si existe riesgo inaceptable para la salud o el m.a.:
  - Los CMR cat.1y2 que puedan ser usados por los consumidores→CE
  - Los EEMM, la Comisión o la ECHA→ expediente de propuesta de restricción que seguirá un Procedimiento: Exp.Propuesta→dictamen ECHA (comités)→Comisión→Decisión CE→proyecto a EEMM







# INFORMACIÓN EN LA CADENA DE SUMINISTRO (1)

- i** "Agentes de la cadena de suministro": Fabricantes y/o importadores y/o usuarios intermedios de una C.S.
  - No los distribuidores (almacenistas y comercio) ni los consumidores.
- i** "Proveedor de una sustancia": Fabricante, importador, usuario intermedio o distribuidor que comercializa una sustancia o preparado.
- i** La **FDS** es la principal herramienta de transmisión de información pero no la única, también hay obligación de transmitir información sobre las sustancias, cadena abajo, cuando no es exigible FDS, y cadena arriba (usuario intermedio → distribuidor → agente anterior):
  - Si dispone de nueva información sobre la peligrosidad... o de otra información que cuestione las medidas de gestión del riesgo contenidas en la FDS para los usos identificados
- i** No es obligatorio proporcionar una FDS si la sustancia o preparado peligroso de venta a la población general va acompañado de la información suficiente para que el usuario pueda tomar las medidas necesarias para la protección de la salud y el medio ambiente, a no ser que la pida un usuario intermedio o un distribuidor.



# INFORMACIÓN EN LA CADENA DE SUMINISTRO (2)

-  **FDS: la facilitará el proveedor a su destinatario (cadena abajo):**
  - Si es peligrosa/o (clasificada/o según RD 363/1995 o RD 255/2003)
  - Si es PBT o mPmB
  - Si está en la lista de sustancias sujetas a autorización del anexo XIV (CMR cat. 1 y 2, PBT, mPmB, otras preocupantes...)
-  **El destinatario podrá pedir una FDS al proveedor para preparados no peligrosos:**
  - Si contiene  $\geq 1\%$ (no gaseosos) o  $0,2\%$ (gaseosos) de una sustancia peligrosa
  - Si contiene  $\geq 0,1\%$ (no gaseosos) de una sustancia PBT, mPmB o anexo XIV
  - Si contiene una sust. con límites de exposición comunitarios en el lugar de trabajo
-  **Toda la información necesaria para cumplir con las obligaciones de REACH se ha de guardar 10 años.**
-  **Contenidos de la FDS: Idioma oficial, fechada, actualizada y gratuita. Con los 16 epígrafes reglamentarios y, en su caso, el anexo con los Escenarios de Exposición. Coherente entre epígrafes, con la etiqueta y, en su caso, con el Informe de Seguridad Química.**



# INFORMACIÓN EN LA CADENA DE SUMINISTRO (3)

## EPÍGRAFES DE LA FDS:

1. Identificación de la sustancia o del preparado y de la empresa: n°, uso, tfno...
2. Identificación de los peligros: clasificación, efectos, síntomas, mal uso, otros...
3. Composición/información sobre los componentes: sust. pel., clasif., n°s, [conc]...
4. Primeros auxilios: efectos inmediatos y retardados, asistencia médica, etc.
5. Medidas de lucha contra incendios
6. Medidas en caso de liberación accidental: precauciones personales, limpieza...
7. Manipulación y almacenamiento: contención, ventilación, diseño, usos...
8. Control de exposición/protección individual: valores límite, controles, medios...
9. Propiedades físicas y químicas: pH, densidad, solubilidad, viscosidad, evaporac.
10. Estabilidad y reactividad: cond. y mat. a evitar, prod. descomposición pel...
11. Información toxicológica: toxococinética, e.agudos, sensibilización, CMR, d.rep
12. Información ecológica: ecotox.,movilidad, persistencia, bioacumulación, PBT...
13. Consideraciones sobre eliminación: manipulación residuos, métodos eliminación
14. Información sobre el transporte: n° ONU, clase, nombre, grupo, cont. marino...
15. Información reglamentaria: VSQ, etiquetado, disposi. particulares, restric.
16. Otra información: frases R, formación, recomendaciones de uso, fuentes dat.



# CONCLUSIONES/PROPUESTAS

- ▶ En gran parte la normativa la hacemos buena o mala los responsables de cumplirla o de hacerla cumplir...
- ▶ Las CCAA debemos establecer y delimitar las competencias y la coordinación entre departamentos en relación al REACH.
- ▶ El MSC a través de la Ponencia de Sanidad Ambiental debe liderar y coordinar las actividades de las CCAA (estrategias, guías, tareas, etc.).
- ▶ Debemos mejorar la formación de los profesionales sanitarios en PQ y debemos dotarlos de los medios adecuados (informáticos, etc.).
- ▶ En las CCAA debemos desarrollar acciones de información dirigidas a las empresas para el gran esfuerzo de adaptación que tienen que hacer...mas intensamente hasta diciembre de 2008 (fin del prerregistro).
- ▶ El REACH se debe vincular mediante el futuro Plan Nacional de Salud y Medio Ambiente a otras actividades como la implantación de sistemas de vigilancia de riesgos químicos (bioindicadores de exposición), etc.
- ▶ El REACH supone una gran oportunidad de trabajar en la mejora, de la protección de la salud y, de la sostenibilidad de las empresas.



A satellite view of Earth showing the Atlantic Ocean, Europe, and Africa. The text "MUCHAS GRACIAS" is overlaid in a bold, yellow, italicized font with a black outline and a yellow underline. The text is centered horizontally across the image.

***MUCHAS GRACIAS***

# Vigilancia y Control Sanitarios en la Aplicación de REACH

**María Tarancón Estrada**  
**S<sup>a</sup>. Gral de Salud Pública y Participación. Consejería de Salud**  
**Junta de Andalucía**  
**Registro, Evaluación, Autorización y restricción de las**  
**sustancias y de los preparados químicos. REACH.**  
**Alcalá de Henares. Julio 2008.**



# Exigencias del REACH en vigilancia y control: Título XIV

- Los países de la UE (EMs) mantendrán un sistema adecuado de vigilancia y control oficial
- Los países de la UE necesitan disposiciones generales sobre sanciones por infracción:
  - Tipificación de infracciones
  - Graduación de las sanciones, que deberán ser efectivas, proporcionadas y disuasorias



# Exigencias del REACH en vigilancia y control: Título XIV

## a) Sistema de control oficial en España

Las CC.AA. desempeñarán esta labor en sus respectivos territorios:

**Autoridades Competentes en vigilancia y control**  
MSC ejercerá la coordinación, Ley 16/2003, SNS

## b) Disp. generales infracciones/sanciones

Los Ministerios con competencias en REACH:  
Mº de Sanidad y Consumo, Mº Medio A, R y M  
Las disposiciones generales deben estar publicadas y en vigor a **1/12/2008**

# Características del REACH para su implementación:

- **Implantación gradual:**

Desarrollo gradual de la vigilancia y el control

- **Puzle de elementos nuevos y “consolidados”:**

Experiencia de vigilancia y control en instrumentos “heredados” de legislaciones anteriores: continuación

- **Estrecha vinculación con la normativa de clasificación y etiquetado:**

Propuesta de Rgto SAM (GHS) de clasificación y etiquetado

# Inicio de la implementación, Fechas clave: 1 de junio 2007 – 1 de junio 2010



# Foro de Intercambio de Información sobre el Cumplimiento del REACH

El FORO contribuirá a facilitar la tarea: ¿Cómo?

- Propuesta, coordinación y evaluación de proyectos armonizados de inspección
- Identificación de estrategias para el cumplimiento de REACH
- Métodos e instrumentos de trabajo útiles para los inspectores
- Procedimiento electrónico de intercambio de información entre EMs

# Foro de Intercambio de Información sobre el Cumplimiento del REACH

## ¿El FORO está ya trabajando?

- Al igual que ECHA, oficialmente ha iniciado su actividad el 1/06/2008
- Sin embargo, está trabajando desde el 12/2007. Plan de Trabajo 2008-2010 aprobado.
- Representantes España en FORO:  
M<sup>o</sup> de Sanidad y Consumo

# Implantación gradual del REACH

¿Qué podemos hacer hasta el 1/6/2010?

## En líneas generales:

- Formar a los profesionales de Salud Ambiental de las CC.AA.
- Informar/Asesorar a los sectores implicados

## De forma específica:

- Vigilar y controlar aquellas partes del REACH que se vayan implementando hasta esta fecha

# Implantación gradual del REACH hasta 1/6/2010



## Formación:

- Organización/Promoción de cursos/jornadas técnicas sobre REACH para profesionales CCAA
- Incentivar la formación de formadores (especialización en REACH/ "REACH coaches")
- En Andalucía: 3 Jornadas Formativas para los profesionales de Salud Ambiental en 05 y 06/08
- Orientación a las características/organización del sector en cada CA

# Implantación gradual del REACH hasta 1/6/2010

## Información/Asesoramiento:



### ¿Quién?

- CC.AA., Ministerio de Sanidad, sectores profesionales

### ¿Cómo?

- Colaboración con el sector químico y las asociaciones empresariales territoriales en el desarrollo de jornadas informativas
- Difusión general de información: webs de salud pública, elaboración/recopilación material
- Difusión selectiva de información: atención personalizada a consultas, empresas /sectores priorizados, a través de organizaciones profesionales



# Implantación gradual del REACH hasta 1/6/2010

## Áreas específicas para la vigilancia y control sanitarios:

- **Información en la cadena de suministro: FDSs**

- **Restricciones**

- **Pre-registro y Registro de sustancias > 1tm**

- **Autorización**

# Implantación gradual del REACH hasta 1/6/2010

**Información en la cadena de suministro: FDS**

**Título IV y Anexo II**

Ya existente

A partir de 1 de junio de 2007. Deroga D 91/155/CE

La función y contenidos de la FDS, y su **gestión** se mantienen prácticamente igual que antes

Las nuevas FDS y actualizaciones se adaptarán al REACH, desde 1/6/2007

De forma gradual, conforme al REACH:

- Se incluirá el nº de registro en toda actualización posterior al mismo
- Se adjuntarán los EE relevantes (del ISQ), tras evaluación riesgos
- Se incluirán en Ep. 15 las autorizaciones/restricciones correspond.

# Esquema de la cadena de suministro



# Ejemplo de la cadena de suministro

Fabricante/Importador  
óxido de cobre (I) - Pigmento

FDS

**UIs**

**Formulador 1**

Usa el óxido de cobre para  
hacer un colorante en pasta

FDS

FDS

**Formulador 2**

Usa el colorante  
para fabricar pintura

FDS

**Fabricante artículo**  
Aplica la  
pintura en puertas que  
vende

**Usuario  
Profesional**  
Pintor  
profesional

**Consumidor**

Compra pintura para  
redecorar

# Implantación gradual del REACH hasta 1/6/2010

## Clasificación y Etiquetado de sustancias y mezclas: No se incluye en REACH

Vigente hasta 12/2010

- Se registrarán por otra legislación nueva: Propuesta de Reglamento sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas. COM(2007)355 final. 27/6/2007.
- Se derogará el Título XI del REACH sobre C&E
- Habrá un periodo transitorio a partir de REACH de:
  - 3,5 años para sustancias (hasta 1/12/2010 RD363/1995)
  - 4,5 años para mezclas (hasta 1/6/2015 RD255/2003)
- Se derogan las Directivas de Sustancias y Preparados:  
A partir del 1/6/2015

# Implantación gradual del REACH hasta 1/6/2010

## Restricciones de Fabricación, Comercialización y Uso de sustancias/preparados peligrosos

Ya existente

El Título VIII y el Anexo XVII se aplicarán desde 1/6/2009  
La D 76/769/CEE quedará derogada a partir de esa fecha.

En el Anexo XVII se ha volcado el Anexo I de la D 76/769/CEE  
(RD 1406/1989, de 10 de noviembre)

Queda pendiente: **Proyecto de modificación antes de 1/6/2009**

- Actualizarlo con las directivas pendientes y las que se publiquen hasta 1/6/2009
- Revisar texto para aumentar su consistencia y facilidad en su ejecución: Era una Directiva y ahora es un Reglamento

FORO: Examinará las propuestas sobre restricciones para asesorar sobre su aplicabilidad ("know-how" de la inspección)

# Implantación gradual del REACH hasta 1/6/2010

## Ejemplos de actuaciones en Vigilancia y Control Sanitarias de Restricciones: Anexo VII

Hasta ahora!

Grupos 28, 29, 30: CMRs 1 y 2  
PQs CMRs 1 y 2 sólo para uso profesional

Grupo 31: creosotas  
Limitación en comercialización de PQs y maderas tratadas

Grupo 46: nonil fenol y etoxilatos de nonil fenol  
Limitación en detergentes, plaguicidas/ biocidas y otros ( $> 0,1\%$  )

Grupo 47: Cementos – Contenido en Cr (VI) soluble

Grupo 48: Tolueno – pinturas/colas spray Venta Público ( $>0,1\%$ )

Gracias por vuestra  
atención



Vigilancia y Control Sanitarios en la  
Aplicación del REACH





Universidad  
de Alcalá

Alcalá de Henares (Madrid)  
3 de Julio de 2008

# LOS SUFRIDORES DE REACH

---

*Dr. Ing. Xavier BARAZA Sánchez  
Director de Seguridad y Medio Ambiente  
DERIVADOS QUÍMICOS, S.A.*

# Dr. Ing. Xavier BARAZA



*Director de Seguridad y Medio Ambiente*  
*DERIVADOS QUÍMICOS, S.A.*  
[baraza@derivadosquimicossa.es](mailto:baraza@derivadosquimicossa.es)



*Profesor Consultor de Prevención de Riesgos*  
*UNIVERSITAT OBERTA DE CATALUNYA*  
[jbaraza@uoc.edu](mailto:jbaraza@uoc.edu)

# ¿De qué vamos a hablar?



**Antes de REACH.**

**¿Qué es REACH?**

**¿Qué cuesta REACH?**

**¿Da beneficios REACH?**

**¿Qué registrar?**

**¿Qué debe hacer la empresa?**

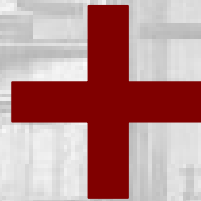
**Ahorrando en REACH**

**Preguntas al aire.**

# Antes de REACH

Reglamento del Consejo nº793/93 de 23 de marzo de 1993 sobre la evaluación y control de los riesgos de las sustancias existentes.

100.016 EINECS



>3.000 EILINCS

SUSTANCIAS EXISTENTES

SUSTANCIAS NUEVAS

35.000 sustancias en el mercado

30.000 entre 1 y 100 t/año

5.000 con más de 100 t/año

# Antes de REACH (2)

1993



2006

“La prueba recae sobre la Administración”

*Del 85% de las sustancias no existe información sobre toxicidad.*

*141 sustancias químicas parcialmente evaluada, sólo 61 completamente.*

**!!!FRACASO!!!**

# ¿Qué es REACH?

## REACH

*Registro, Evaluación, Autorización  
y Restricción de Químicos*

*'Es el conjunto normativo más amplio de la Historia Comunitaria'.*

*'Es la legislación más progresista del mundo en cuanto a su impacto socio-económico, cuidado de la salud y tutela del medio ambiente'.*

*Luca Caridà*

# ¿Qué cuesta REACH?

*La empresa BASF estimó el coste potencial de REACH en 550 millones de euros para un período de entre 10 y 12 años.*

*BP estimaba en 150 millones de euros el coste de cumplimiento del REACH para las sustancias petroquímicas y lubricantes de la empresa.*

***“La prueba recae sobre la Empresa”***

# ¿Qué cuesta REACH? (2)

## Estimación de costes (Witmond, 2004)

### COSTES DIRECTOS

Pre-Registro	100 MM€
Pruebas	2.400 MM€
Redacción de CSA	190 MM€
Redacción de SDS	250 MM€
Registro	800 MM€
Evaluación	¿? MM€
Autorización	200 MM€

---

**TOTAL 3.940 MM€**

## ¿Y los indirectos?



# ¿Qué cuesta REACH? (3)

**COSTES DIRECTOS + COSTES INDIRECTOS**

**8.000 ~ 9.000 MM€**

*Los costes totales sólo representan un 0,03% del valor total de las ventas anuales de la industria química europea (578.000 MM€, 2004).*

**¿Y las PyMEs?**

# ¿Proporciona beneficios REACH?

**Coste Total en España  
1.800 MM€**

**÷**

**Beneficio Total en España  
27.650 MM€**

**6,5%**

***¿Cómo se ha calculado?***

# ¿Qué registrar?

**Toda sustancia fabricada o importada en volúmenes  $\geq 1$  tonelada/año por fabricante o importador.**

**Sustancias como tales  
Sustancias en preparados  
Sustancias en artículos destinadas a ser liberadas**

**¿Y los intermedios?**

**Intermedios no aislados → NO SE REGISTRAN  
Intermedios aislados in situ  
Intermedios aislados transportados**

# ¿Qué registrar? (2)

## Sustancias NO fase transitoria:

- Registro a partir del 1 de Junio de 2008.

↓  
**REGISTRO**

## Sustancias en fase transitoria:

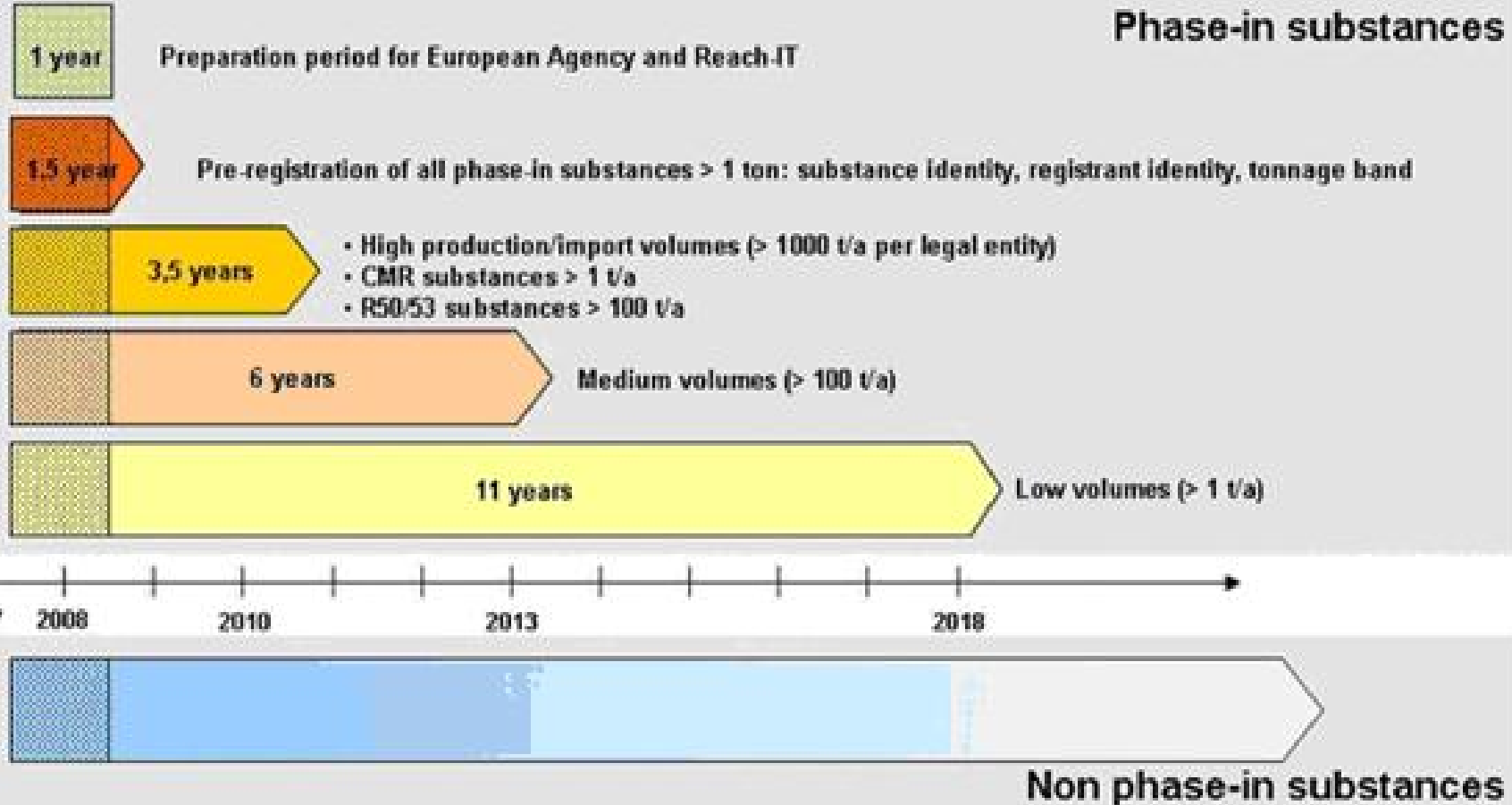
- Contenidas en el registro EINECS.
- Fabricadas pero no comercializadas en los últimos 15 años (01/06/1992 a 01/06/2007).
- *No longer polymers.*

↓  
**PRE-REGISTRO**

**¡¡¡Si olvidas pre-registrar no hay régimen transitorio!!**

# ¿Qué registrar? (3)

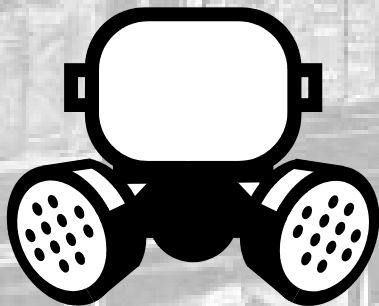
01 June 2007: REACH Regulation Into Force



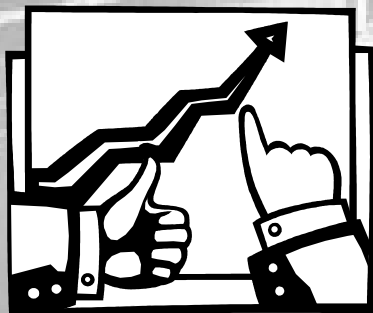
# ¿Qué debe hacer la empresa?



**1** CONOCER SUS SUSTANCIAS Y PREPARADOS



**2** CONOCER A LOS CLIENTES Y SUS USOS



**3** EVALUAR LOS COSTES Y EL IMPACTO EN EL NEGOCIO

# ¿Qué debe hacer la empresa? (2)

## CONOCER LAS SUSTANCIAS Y PREPARADOS

1. Elaborar el inventario de todas las sustancias y preparados que maneja la empresa.
2. Analizar las posibles exenciones.
3. Definir, para cada sustancia, si es fabricante, importador o usuario intermedio.
4. Se deben dividir los preparados en las sustancias individuales contenidas.
5. Si se trata de polímeros, concretar que monómeros contiene.
6. Establecer el volumen anual de fabricación, importación o uso, por sustancia.
7. Identificar los números CAS, EINECS o EILINCS si es posible.
8. Recopilar toda la información disponible sobre escenarios de exposición.
9. Recoger toda la información disponible (referido a propiedades).
10. Evaluar la calidad de los datos y localizar los justificantes de los costes de los ensayos.
11. Programa de adquisición de datos que falten.
12. Listar todos los proveedores para poder establecer contactos con todos ellos.

# ¿Qué debe hacer la empresa? (3)

## CONOCER A LOS CLIENTES Y SUS USOS

Disponer de información sobre los usos de sustancias dados por los clientes con una visión global de 'ciclo de vida'.

- Nivel de confidencialidad que quieren para sus usos.
- Secreto de fabricación a proteger.

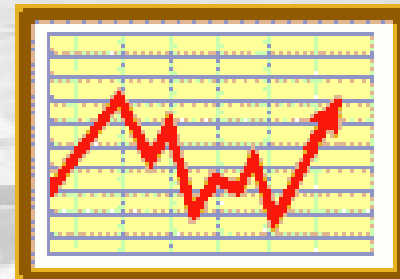
Dar a conocer los 'usos inapropiados' incluso 'no respaldados' y escuchar las preocupaciones en este sentido de los clientes.





# ¿Qué debe hacer la empresa? (4)

## EVALUAR LOS COSTES Y EL IMPACTO EN EL NEGOCIO



- ❖ Analizar las soluciones alternativas para evitar la realización de ensayos.
- ❖ Cálculo aproximado de los costes de los ensayos.
- ❖ Estimación de los costes indirectos: tasas, costes administrativos, elaboración de dossieres, constitución de consorcios, ...

# ¿Qué debe hacer la empresa? (5)

## POSICIONAMIENTO ESTRATÉGICO

Cuota de mercado de la empresa para cada sustancia.

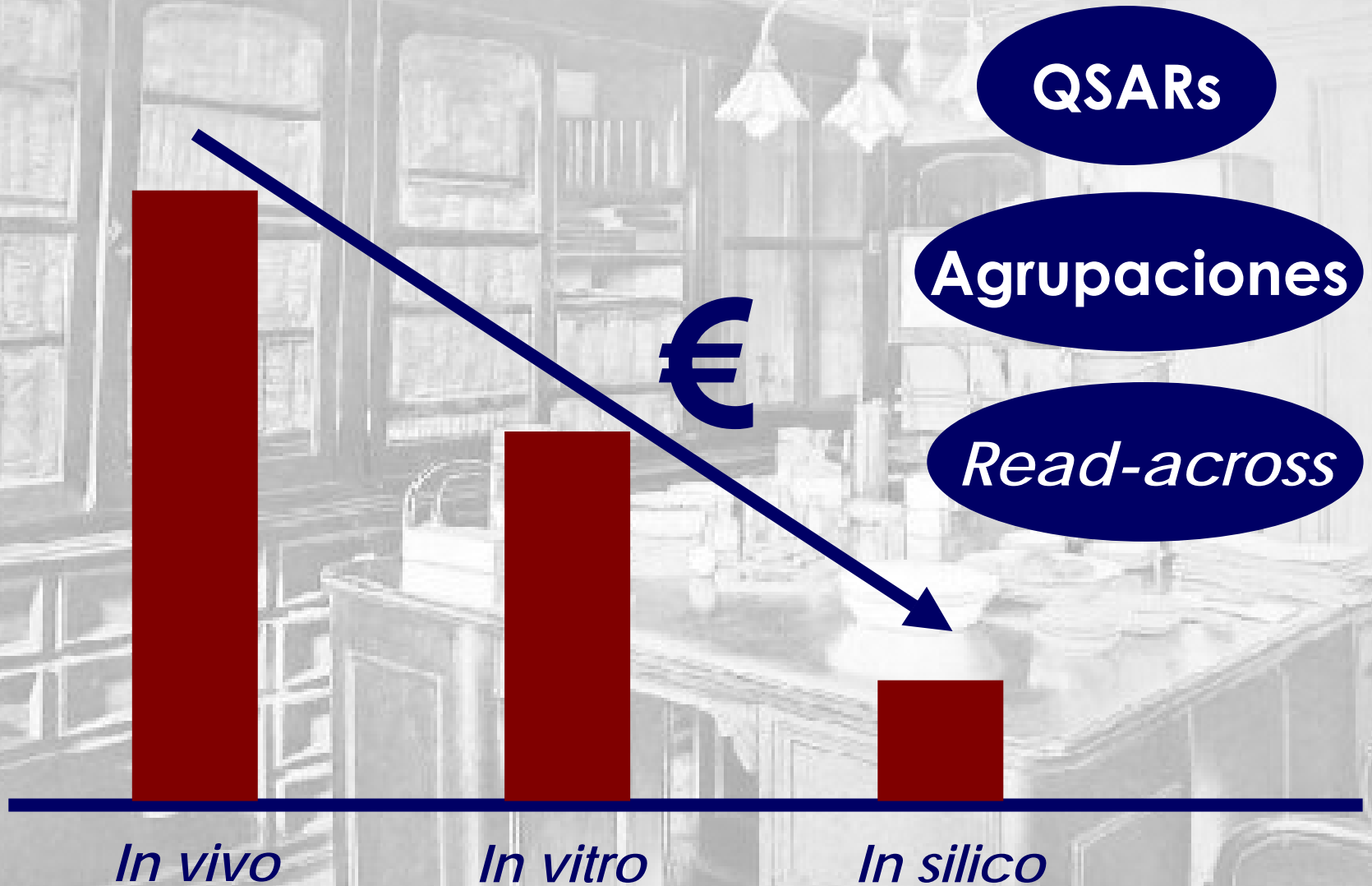
Costes de los ensayos para la empresa frente al margen de beneficios.

## ESTRATEGIA POR SUSTANCIA

- ❖ Análisis de los impactos aguas arriba en los suministradores: desaparición de sustancias, modificación de formulaciones (costes I+D), incremento de los costes de materias primas:
  - ❖ Compartir los costes de los estudios para su mantenimiento en el mercado (con o sin aumento de precio).
  - ❖ Retirada del mercado o deslocalización.
- ❖ Análisis del impacto aguas abajo: sustitución de sustancias, cambio de formulación:
  - ❖ Desoptimización técnica o económica.
  - ❖ Abandono de la aplicación.
- ❖ Impacto para los consumidores

# Ahorrando en REACH

LOS SUFRIDORES DE REACH



# Ahorrando en REACH (2)

## QSARs

Modelizaciones informáticas para predicción de:

- Datos físico-químicos
- Datos toxicológicos
- Datos ecotoxicológicos

Requisitos de aceptación:

- Modelos validados
- Transparentes
- Dentro del dominio de aplicación

# Ahorrando en REACH (3)

## Agrupaciones



**Categorías OCDE, EPA, ...**

**Entre sustancias: Posible reducción de ensayos.**

**Otras sustancias. Participación en otros foros de intercambio**

# Ahorrando en REACH (4)

## *Read-across*

Mismo perfil frente a un 'end-point'  
Extrapolación de datos

Condiciones de aplicación:

- Demostrable científicamente
- Argumentación transparente
- Estadísticamente aceptable
- *Toolbox (OCDE), ToxMatch, ...*



# Preguntas al aire

*¿Qué pasará con Estados Unidos? ¿Y con China?*

*¿Cómo afectará a otras normativas?*

*¿Desaparecerán sustancias del mercado?*

*¿Quién controlará el cumplimiento?*

*¿Habrá sanciones? ¿Cómo serán?*

*¿... ..?*

# Woody Allen (NY, 1935-)



ELER

*He hecho un curso de lectura veloz y he leído 'Guerra y Paz' en 20 minutos. Habla de Rusia.*





Universidad  
de Alcalá

Alcalá de Henares (Madrid)  
3 de Julio de 2008

# LOS SUFRIDORES DE REACH

---

*Dr. Ing. Xavier BARAZA Sánchez  
Director de Seguridad y Medio Ambiente  
DERIVADOS QUÍMICOS, S.A.*

**UNIVERSIDAD DE ALCALÁ DE HENARES**  
**SECCIÓN TOXICOLOGÍA AMBIENTAL/AETOX**

**PROGRAMA, REGISTRO, EVALUACIÓN,  
AUTORIZACIÓN Y RESTRICCIÓN DE LAS  
SUSTANCIAS Y DE LOS PREPARADOS  
QUÍMICOS. REACH**

**Dras. Matilde Carballo y Ana de la Torre**

**CISA-INIA**

**Cursos de Verano**

**Facultad de Farmacia. UAH**

**1-4 Julio 2008**



**MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN**

**INSTITUTO NACIONAL DE  
INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA  
AGRARIA Y ALIMENTARIA**

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN SANIDAD ANIMAL**



**CISA - Carretera de Algete a El Casar, Valdeolmos - 28130 Madrid - [www.inia.es](http://www.inia.es)**

A group of eleven people, seven women and four men, are posed for a group photograph outdoors. They are arranged in two rows: five people are standing in the back row, and six people are kneeling or sitting in the front row. The background features a large, spiky green plant, possibly a palm or cycad, and a brick-paved walkway. The group is dressed in winter attire, including jackets, scarves, and sweaters. The overall atmosphere is professional and collaborative.

**Grupo de Epidemiología  
y Sanidad Ambiental**

## Experiencia en Evaluación de Riesgo:

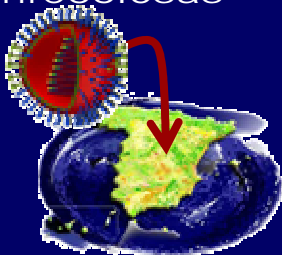
### VALORACIONES DE RIESGO

- Valoración de Riesgo de Fitosanitarios para su registro en la UE
- Evaluación Ambiental de medicamentos veterinarios
- Análisis de Riesgo de Suelos Contaminados: "Guía Técnica"



### SECTOR GANADERO

- Análisis de Riesgo de Vertidos
- Análisis de riesgo de enfermedades infecciosas



## Experiencia en evaluaciones ecotoxicológicas y metodologías biológicas:

### ENSAYOS BIOLÓGICOS



### ENSAYOS DE CAMPO



# ÍNDICE

## 1. PROBLEMÁTICA AMBIENTAL DE LAS SUSTANCIAS PURAS Y PREPARADOS

## 2. ANTECEDENTES REACH: ECOTOXICOLOGÍA

### 3. REACH: EXPEDIENTE TÉCNICO:

- PRINCIPIOS ECOTOXICOLOGÍA
- CLASIFICACIÓN ECOTOXICOLÓGICA



## 4. REACH: EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD QUÍMICA



# **1. Problemática ambiental: CONTAMINANTES AMBIENTALES**

Convención de Estocolmo, 2004.

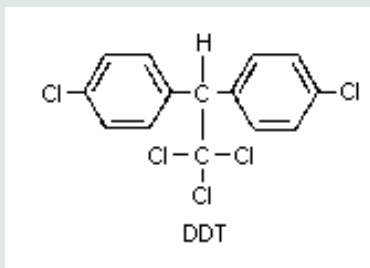
Lista de POPs Regulados/Prohibidos



- **Compuestos químicos**
- **Inicio empleo masivo en años 40s**
- **Uso industrial, agrícola y domestico**
- **Distribución global**
- **Incorporan a los ciclos naturales**

# 1. Problemática ambiental: CONTAMINANTES AMBIENTALES

## • 23 Pesticidas Clorados (OCPs)



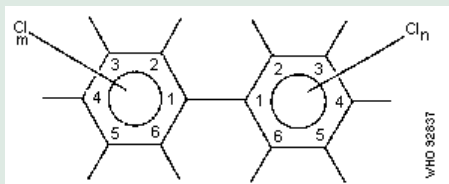
## • 3 C. Organoestannicos (Sn)



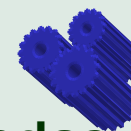
## • 3 Ftalatos



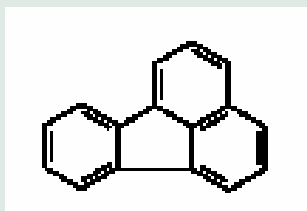
## • 11 Bifenilos policlorados (PCBs)



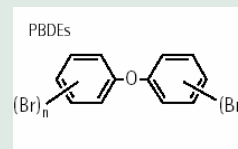
## • 3 Metales pesados: Hg, Pb, Cd



## • 17 Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs)

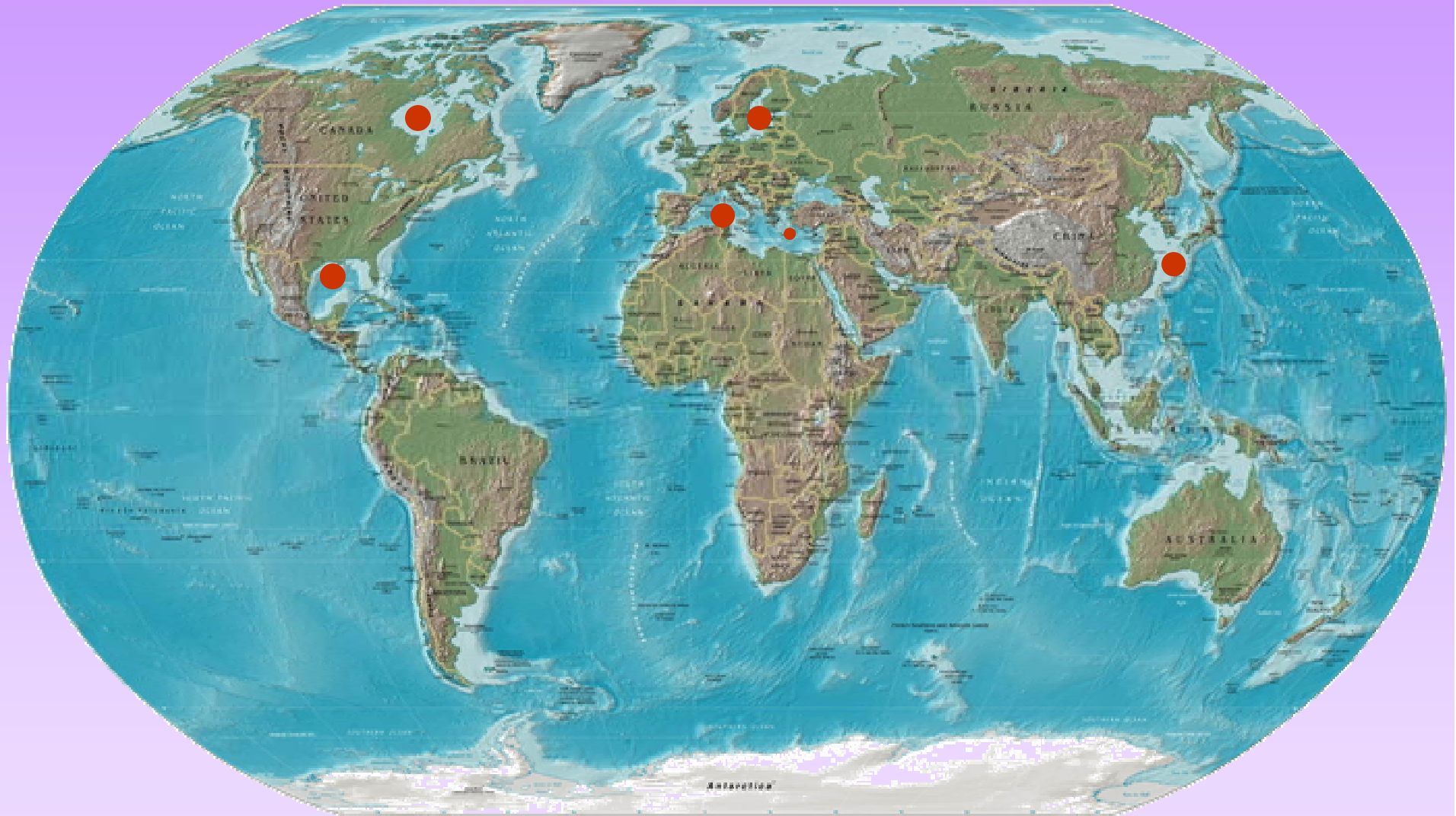


## • 3 Eteres polibromados diferilos





# 1. Problemática ambiental: CONTAMINANTES AMBIENTALES



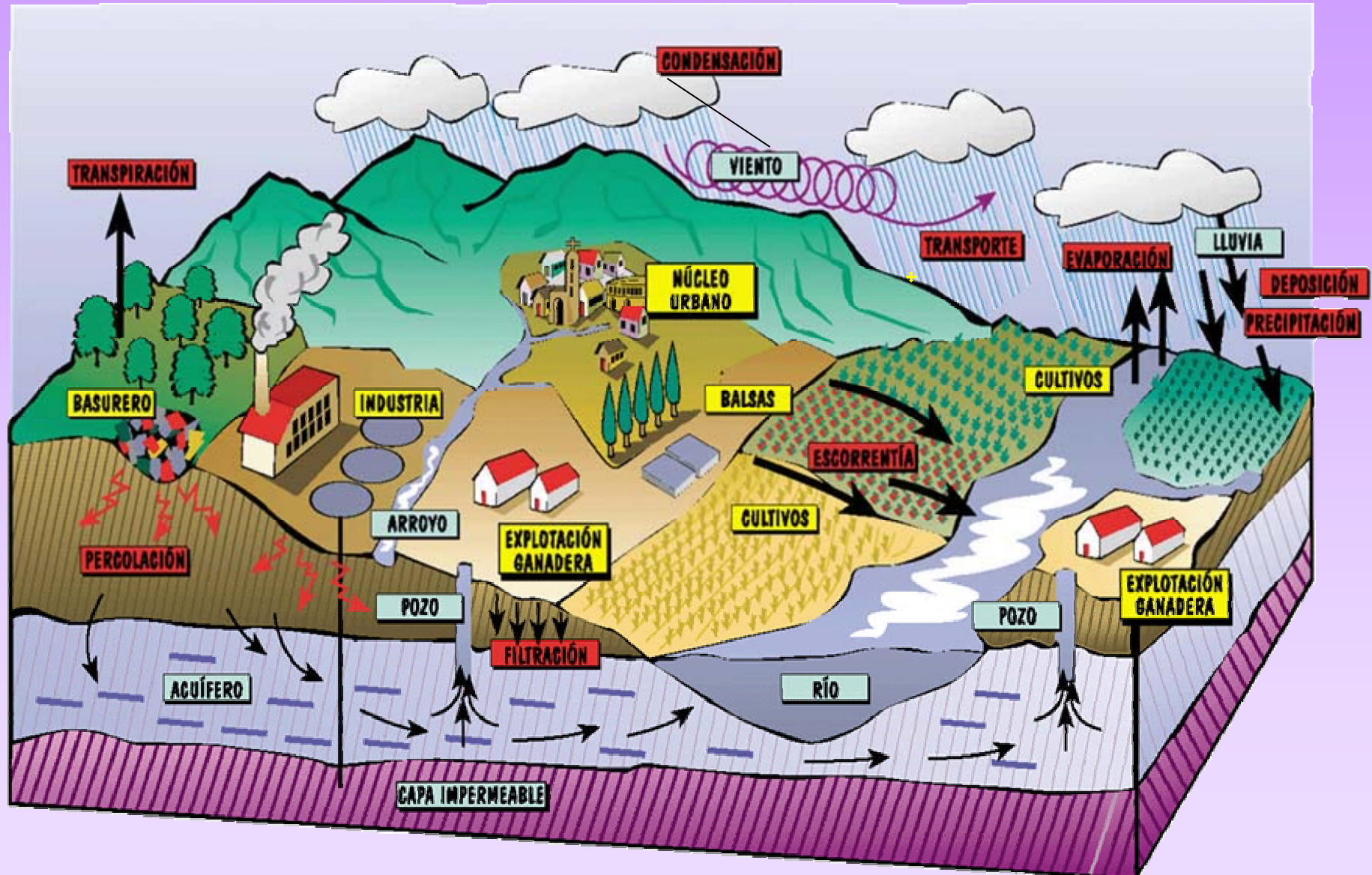
Zonas más contaminadas

# 1. Problemática ambiental

Atmosférico

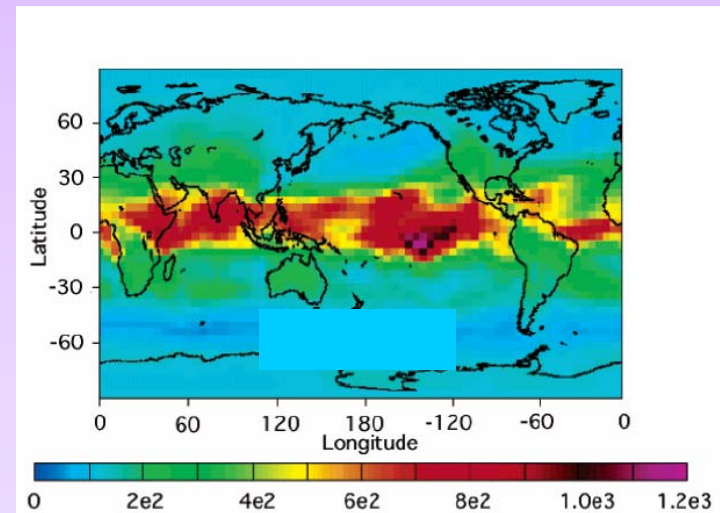
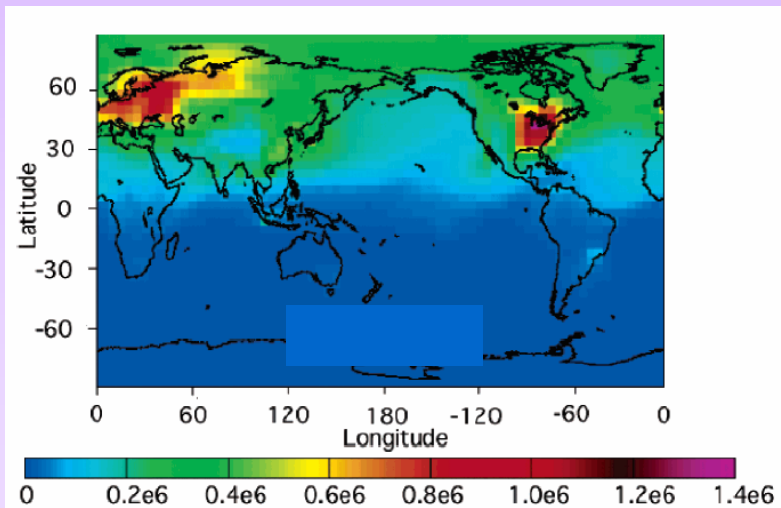
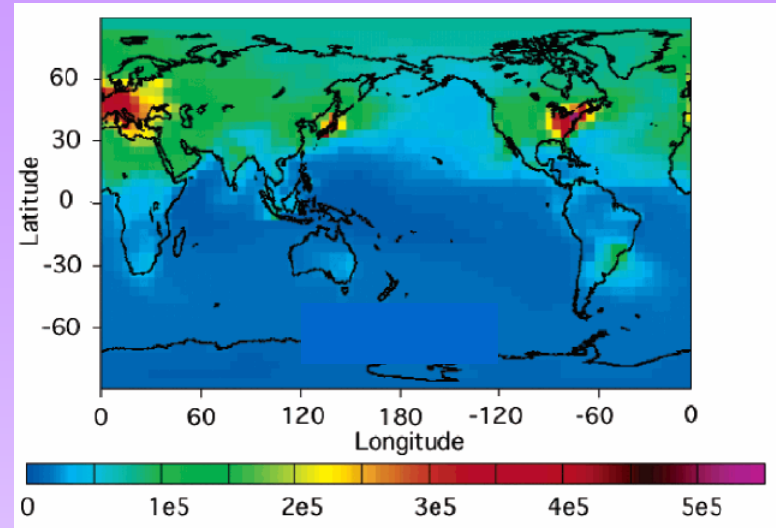
Terrestre

Acuático

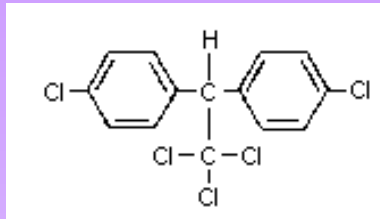


# 1. Problemática ambiental: TRANSPORTE ATMOSFÉRICO

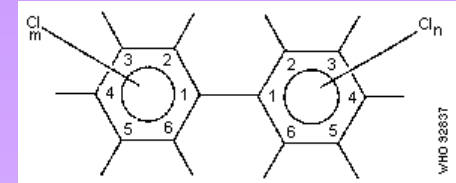
Propiedades fisico-químicas



# 1. Problemática ambiental: COMPUESTOS PERSISTENTES



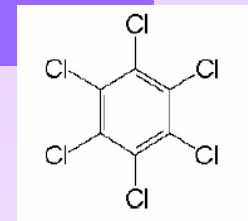
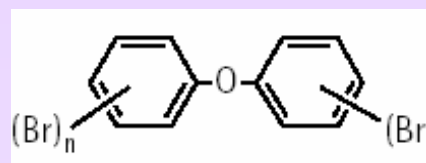
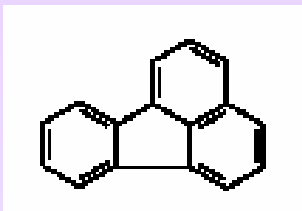
**Pb**



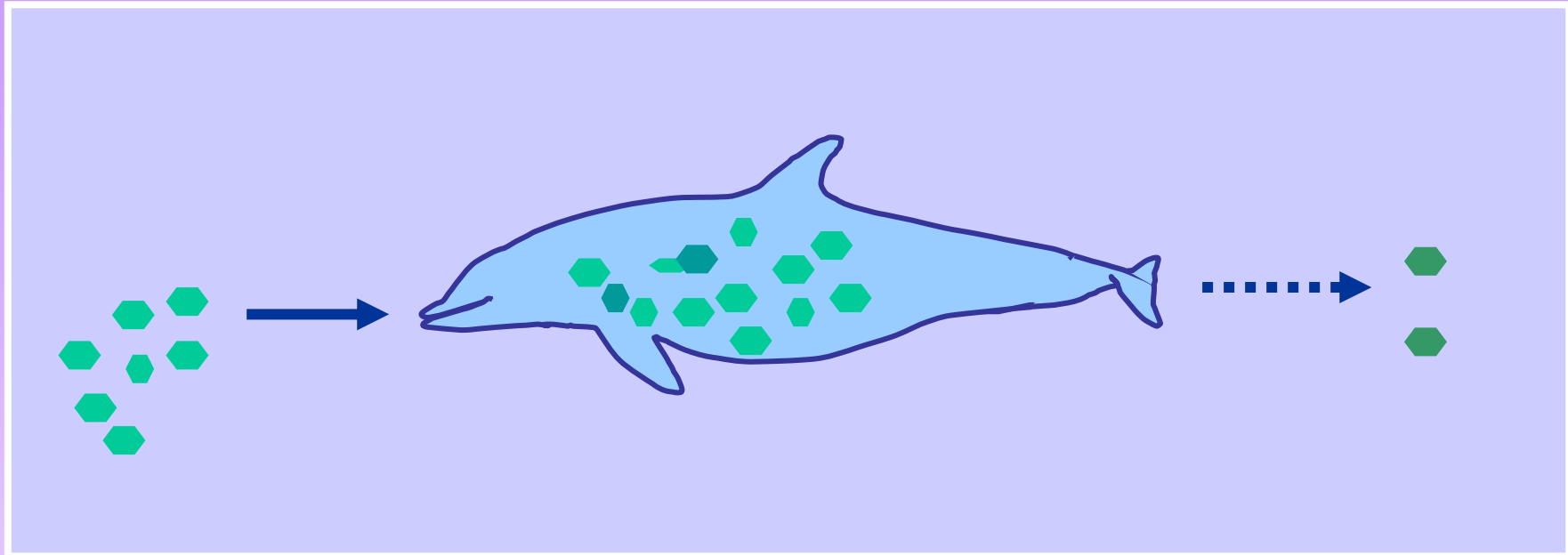
**Cd**

**Hg**

- Compuestos inorgánicos y orgánicos
- Muchos son compuestos sintéticos
- Muy estables
- Resistentes a la degradación
- Metabolitos también persistentes
- Vida media muy elevada

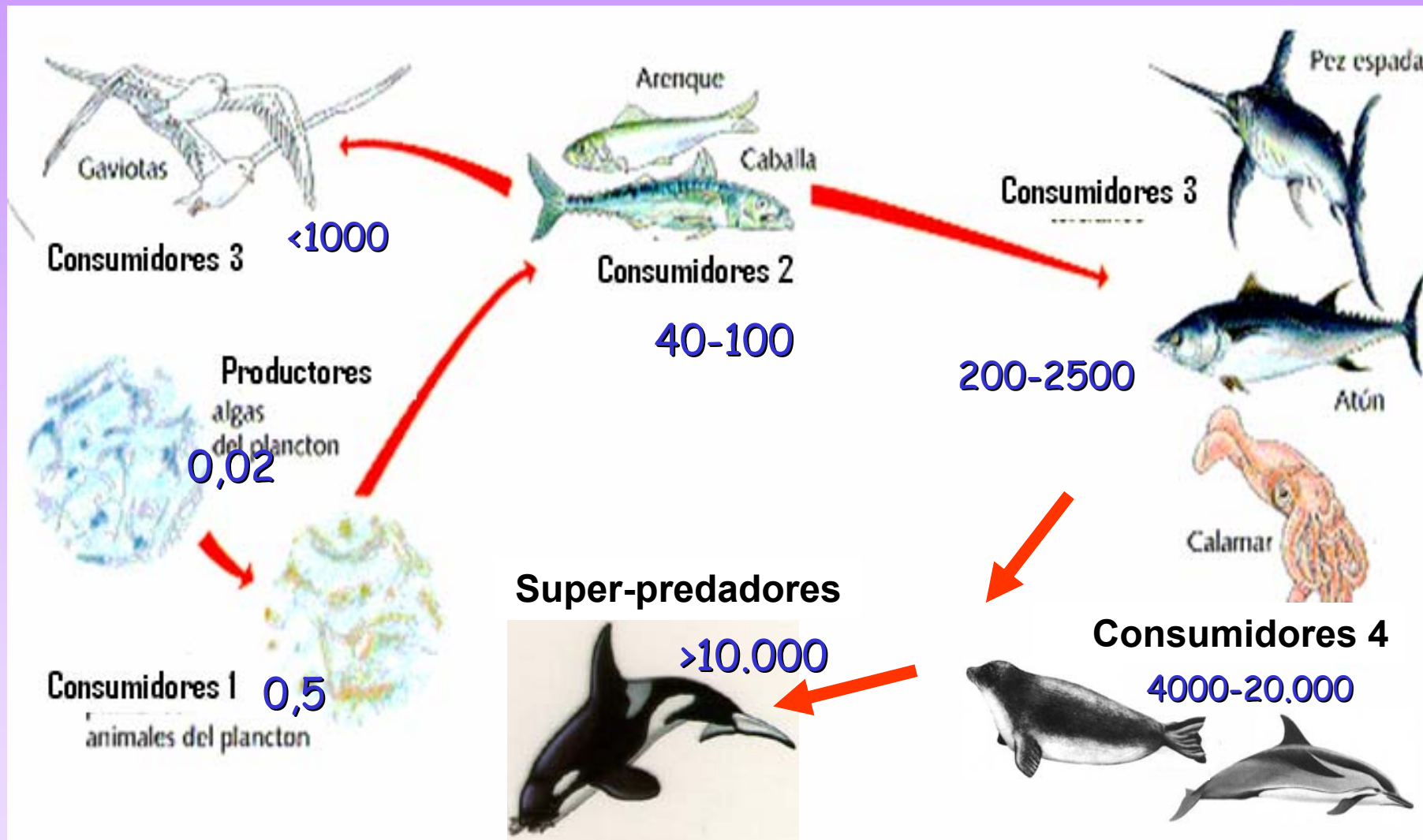


# 1. Problemática ambiental: CAPACIDAD DE BIOACUMULACIÓN



- Tasa de absorción mayor que tasa de eliminación
- Metabolismo muy lento
- Incremento concentración en el organismo
- Órgano ó tejido de almacenamiento
- $BCF > 5000$

# 1. Problemática ambiental: BIOMAGNIFICACIÓN

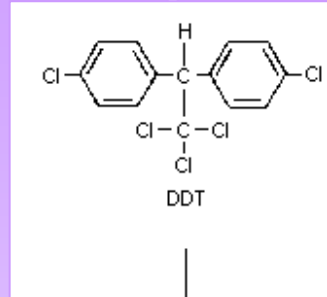


# 1. Problemática ambiental: METABOLITOS (DDT)

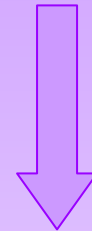
## • Insecticida: 1940s

Formulación agrícola:

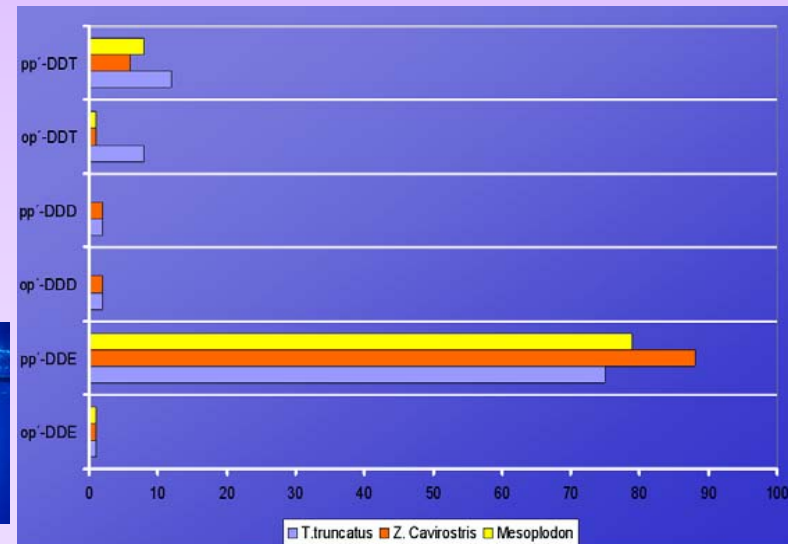
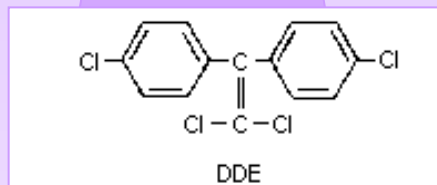
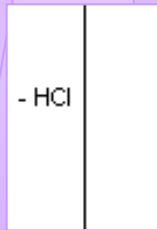
75% pp'-DDT, <5% pp'-DDE



> 60 años



## • Residuo en tejido graso: 2000s



# 1. Problemática ambiental: TOXICIDAD (Efecto adverso)

## Corto plazo



Efecto agudo: mortalidad

## Medio plazo



## Largo plazo



Efecto crecimiento  
Efecto reproducción  
Efecto sist. Inmune  
Efecto sist. endocrino  
otros



# 1. Problemática ambiental: TOXICIDAD (Mortalidad en peces)



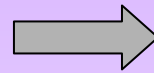
Efluente minero



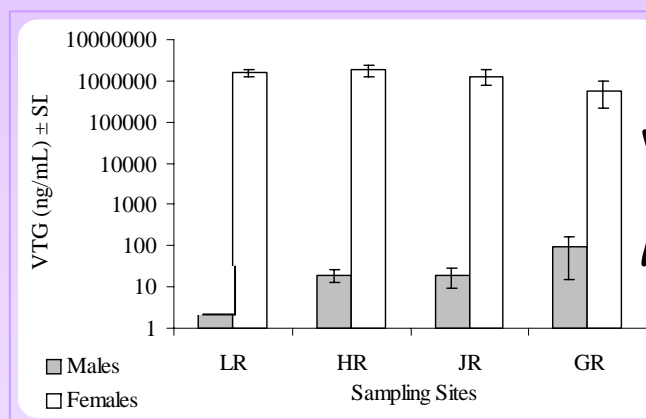
Parámetros de calidad  
Metales



# 1. Problemática ambiental: TOXICIDAD (Alteración hormonal)



CARPAS



VITELOGENINA  
MACHOS

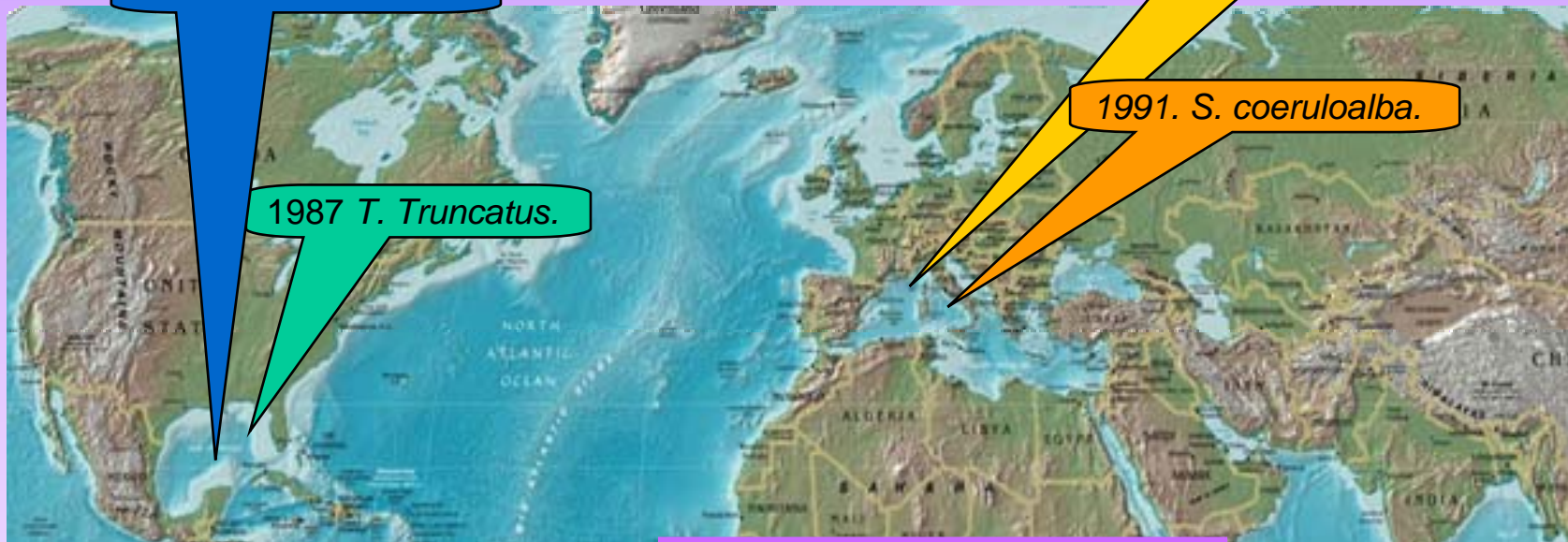
Efectos Reproducción

# 1. Problemática ambiental: TOXICIDAD (Efecto en sistema inmune)



1993-94 *T. Truncatus*.

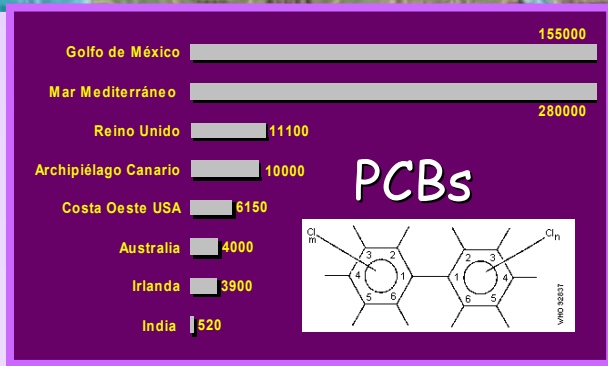
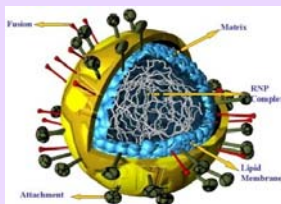
1990. *S. coerulealba*.



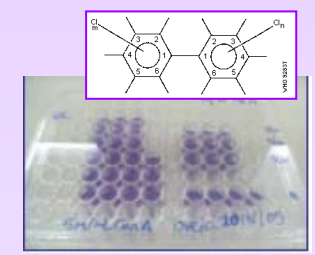
1987 *T. Truncatus*.

1991. *S. coerulealba*.

## Morbillivirus



Investigación



# 1. Problemática ambiental: TRANSFERENCIA EN MAMÍFEROS



CONTAMINANTES DE LAS HEMBRAS

(Detoxificación)



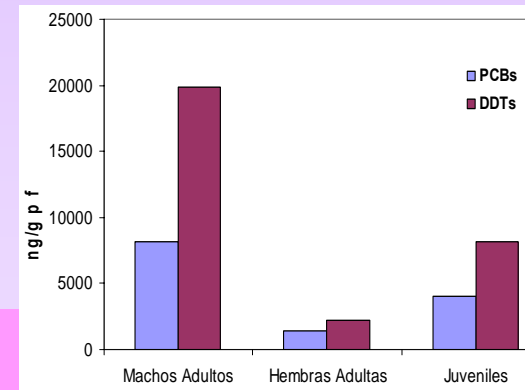
SE TRANSFIEREN A SU DESCENDENCIA

EXPOSICION PRENATAL Y NEONATAL

EPOCA MUY VULNERABLE

Efectos en la Reproducción

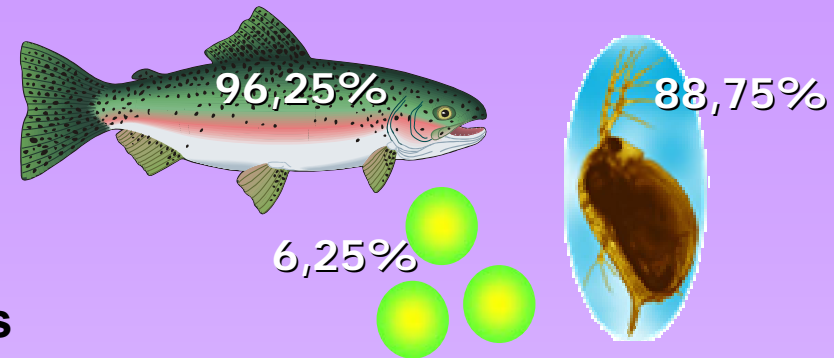
Compuestos lipofílicos



## 2. Antecedentes del REACH

### SUSTANCIAS PURAS Y PREPARADOS

- Directiva 67/548/CEE
- Directiva 1999/45/CE
- Reglamento CE 793/93 → Guías técnicas



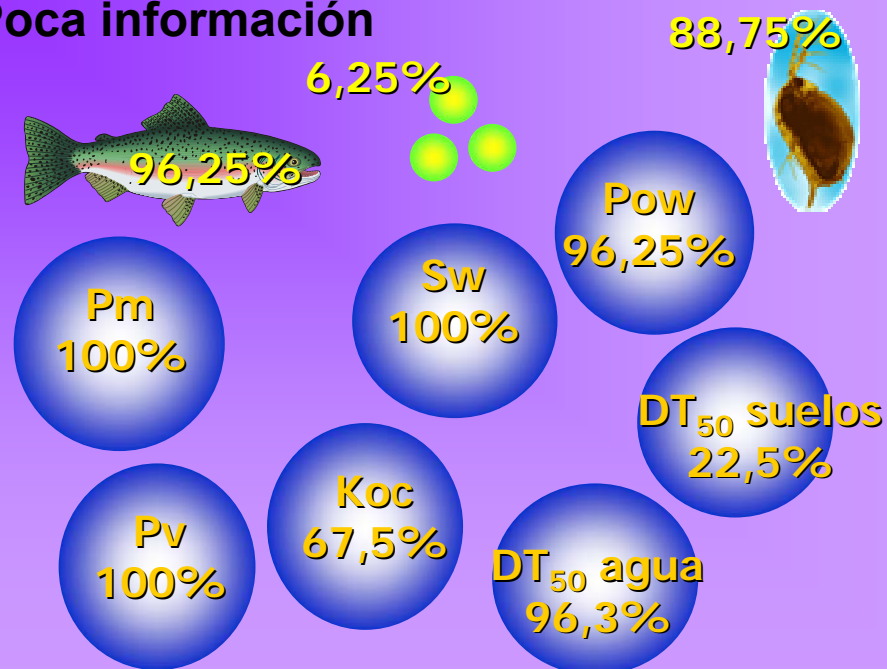
<b>LENTO</b> <b>ALTOS RECURSOS</b>	<b>2.500 sustancias</b> <b>4 listas prioritarias con 141 sustancias = no se ha finalizado</b> <b>1 sustancia = 4-6 años:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Clasificación = Medio acuático</li></ul>
<b>ASIGNACIÓN DE RESPONSABILIDADES INADECUADA:</b> <b>DIFICULTAD DE REALIZAR ENSAYOS COMPLEMENTARIOS</b>	<b>Evaluación la realiza el estado miembro. Sólo se piden estudios si existe riesgo demostrado:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Disrupción endocrina</li><li>• Mayoría de datos en compartimento acuático ~ otras regulaciones (ej: OCAs)</li></ul>

# Soluciones del REACH

- “Set” básico de datos de ecotoxicidad es solicitado a la industria
- Incluye otros efectos como carcinogénesis, mutagénesis o disrupción endocrina cuando existen evidencias en humanos
- Solicitud de datos: “pros y contras”:

1. QSAR
2. COMPUESTOS ANÁLOGOS

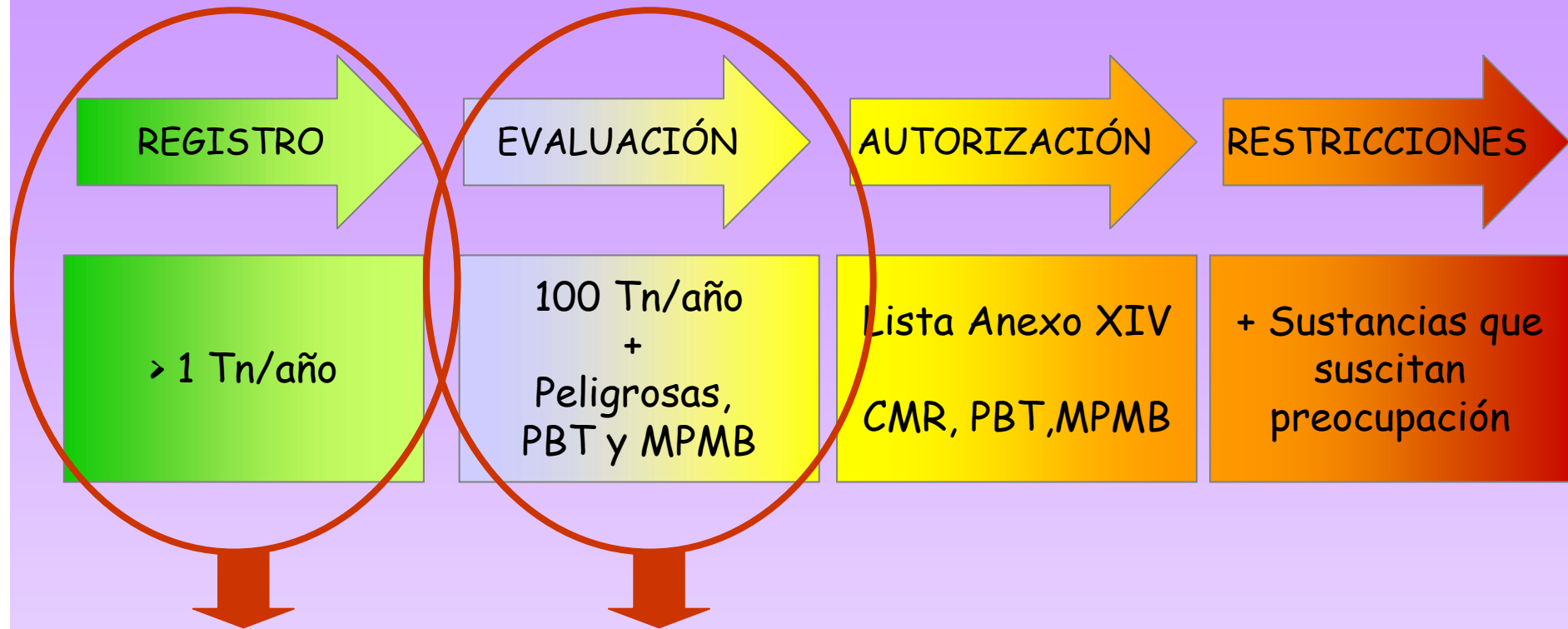
## Poca información



3. DATOS DISPONIBLES (no GLP)
4. DATOS HISTÓRICOS (Estudios de control, seguimiento o vigilancia)

- Baja calidad  
(≠ protocolo, especificación ↓)
- Bibliografía científica

# REGLAMENTO REACH: CE 1907/2006. Diciembre 2006



EXPEDIENTE TÉCNICO



EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD QUÍMICA



### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

La clasificación y etiquetado incluye la evaluación del peligro de un sustancia o preparado y la comunicación de ese peligro mediante una etiqueta.

#### VALORACION DEL PELIGRO PARA EL MEDIO AMBIENTE

Propiedades físico-químicas

Propiedades toxicológicas

PROPIEDADES ECOTOXICOLOGICAS



### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

#### ETIQUETADO

IDENTIFICACION DE PELIGRO  
Peligrosas para el Medio Ambiente

SIMBOLO: N

FRASES R y S  
Frases de Riesgo R50-R59

PICTOGRAMA

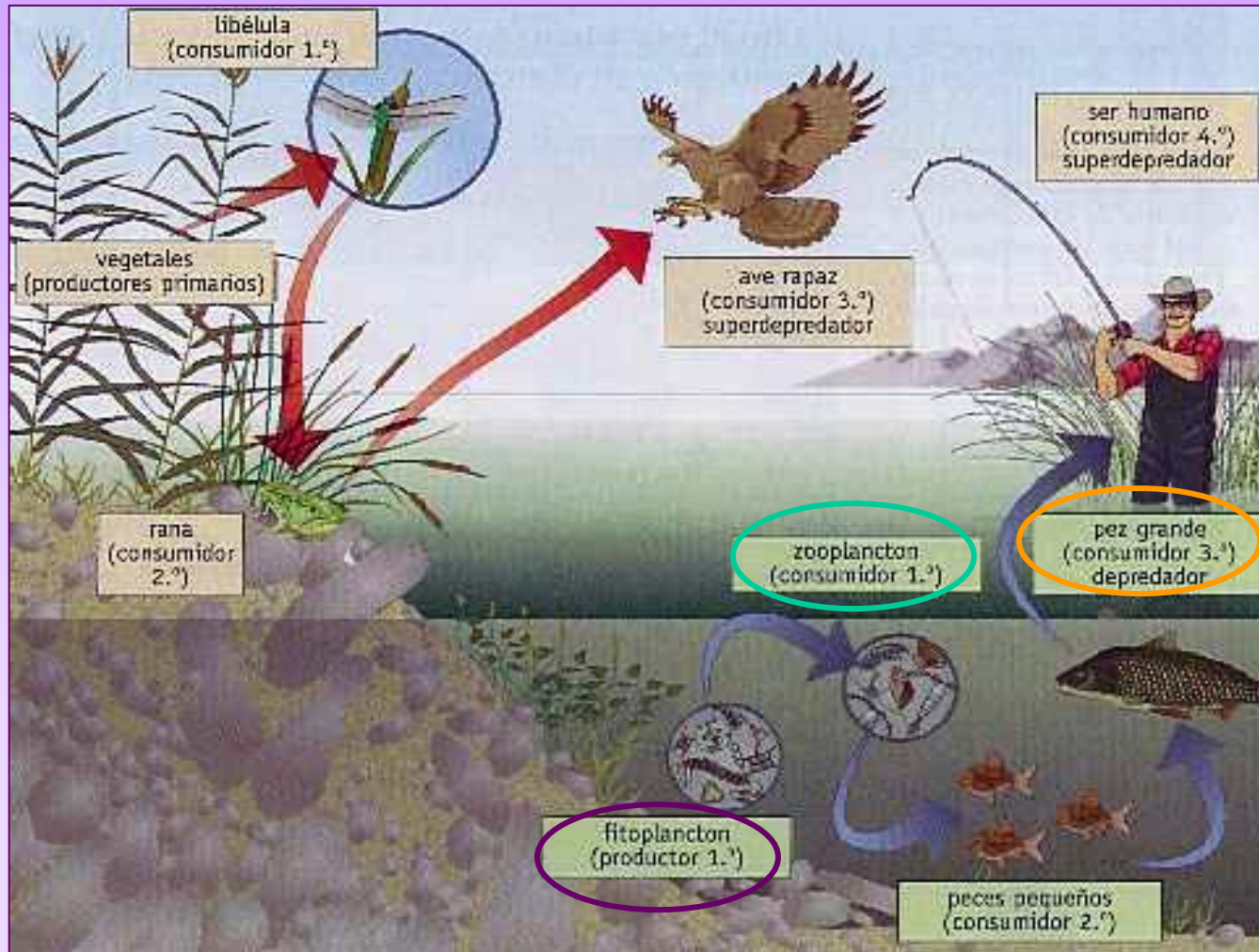


FICHA DE SEGURIDAD

### 3. REACH: Principios de ecotoxicología

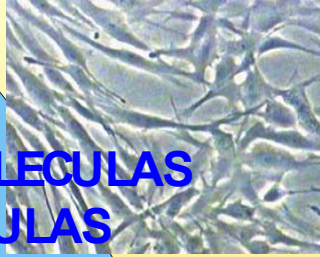
#### Propiedades Ecotoxicológicas: IDENTIFICACION DEL PELIGRO

Se valoran efectos en organismos representativos de los diferentes compartimentos ambientales considerados en el REACH



E  
n  
s  
a  
y  
o  
s  
  
d  
e  
  
e  
c  
o  
t  
o  
x  
i  
c  
i  
d  
a  
d

**MOLECULAS**  
**CÉLULAS**  
Metabolitos  
Genes  
Enzimas-proteínas



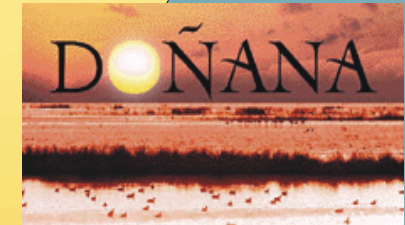
**ORGANISMOS**  
Metabolismo  
Comportamiento  
Crecimiento  
Morfología  
Reproducción  
Supervivencia



**POBLACIÓN**  
**COMUNIDAD**  
Diversidad  
Abundancia  
Interacciones intesp  
Estructura espacial



**ECOSISTEMA**  
Productividad  
Descomposición  
Ciclo nutrientes  
Cadena trófica  
Flujo energía



**SENSIBILIDAD**

**RELEVANCIA**

Segundos  
Días

Minutos  
Años

Días  
Años

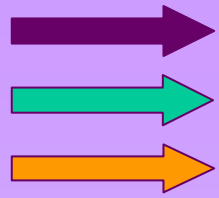
Semanas  
Décadas

**CORTO PLAZO**

**TIEMPO DE RESPUESTA**

**LARGO PLAZO**

### 3. REACH: Principios de ecotoxicología



#### ENSAYOS DE ECOTOXICIDAD



#### • Criterios de selección de especie

- Relevancia ecológica
- Especie cosmopolita
- Alta sensibilidad
- Baja variabilidad
- Mantenimiento fácil
- Información disponible en el menor tiempo posible (ciclo vital corto)
- Parámetros de expresión fácilmente medibles

#### • Características de ensayo

Estandarizado  
Reproductible  
Sencillo  
Sensible  
Representativo



### 3. REACH: Principios de ecotoxicología

#### ENSAYOS de ECOTOXICIDAD en COMPARTIMENTO ACUATICO

vertebrados



Peces

invertebrados



Crustáceos

vegetales



Algas

microorganismos



Bacterias

### 3. REACH: Principios de ecotoxicología

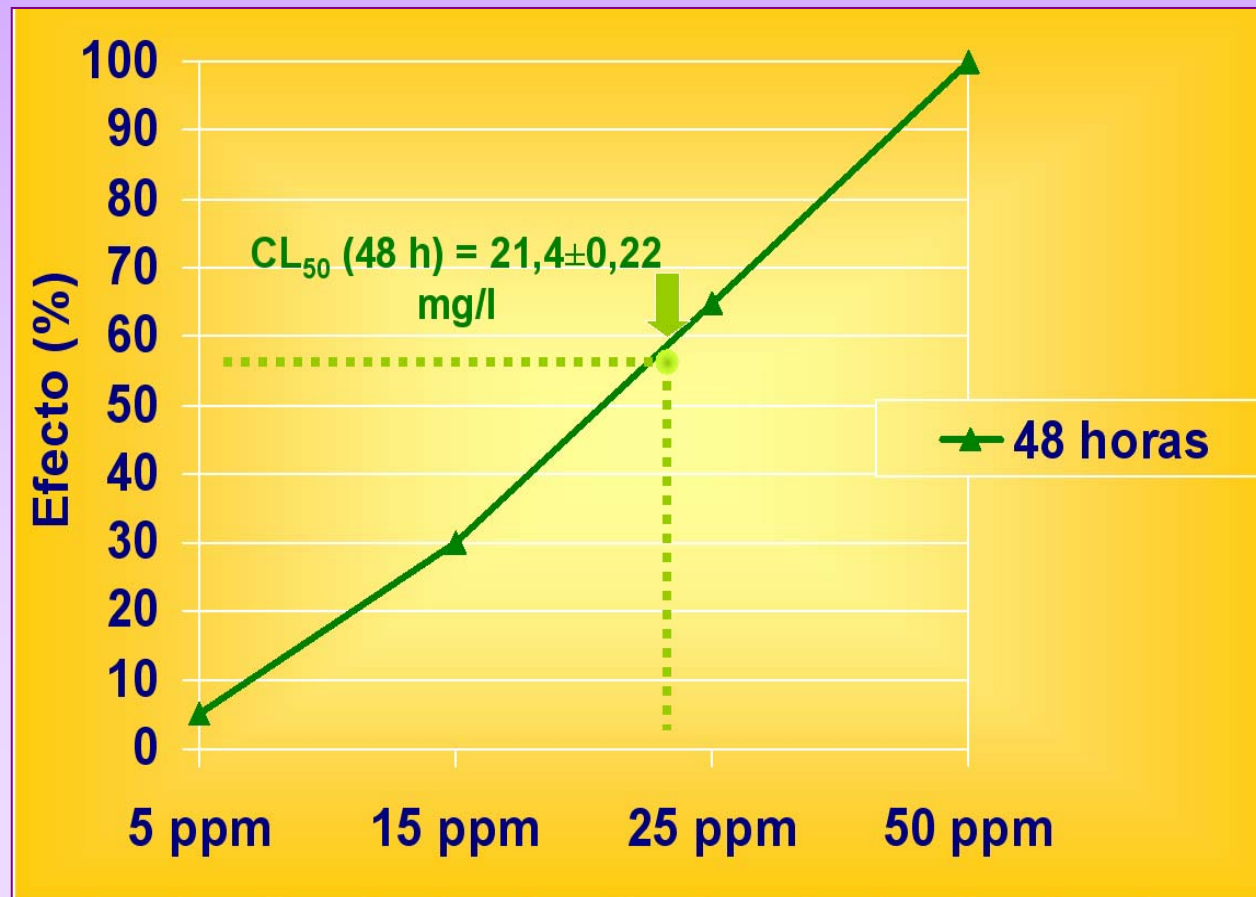
## Ensayos de ecotoxicidad

Corto plazo		OECD 201. Ensayo de inhibición del crecimiento en algas
		OCDE 202. Ensayo de toxicidad aguda en <i>Daphnia magna</i>
		OCDE 203. Toxicidad aguda en peces
Largo plazo		OCDE 211. Ensayos de reproducción en <i>Daphnia magna</i>
		OCDE 204. Ensayo de Toxicidad crónica en peces
		OECD 212: Ensayo de toxicidad embriolarval en peces

### 3. REACH: Principios de ecotoxicología

#### EXPRESION TOXICIDAD en ENSAYOS de ECOTOXICOLOGIA

Toxicidad Aguda:  $CE_{50}$   $CL_{50}$   
Corto plazo: Duración < 96 h

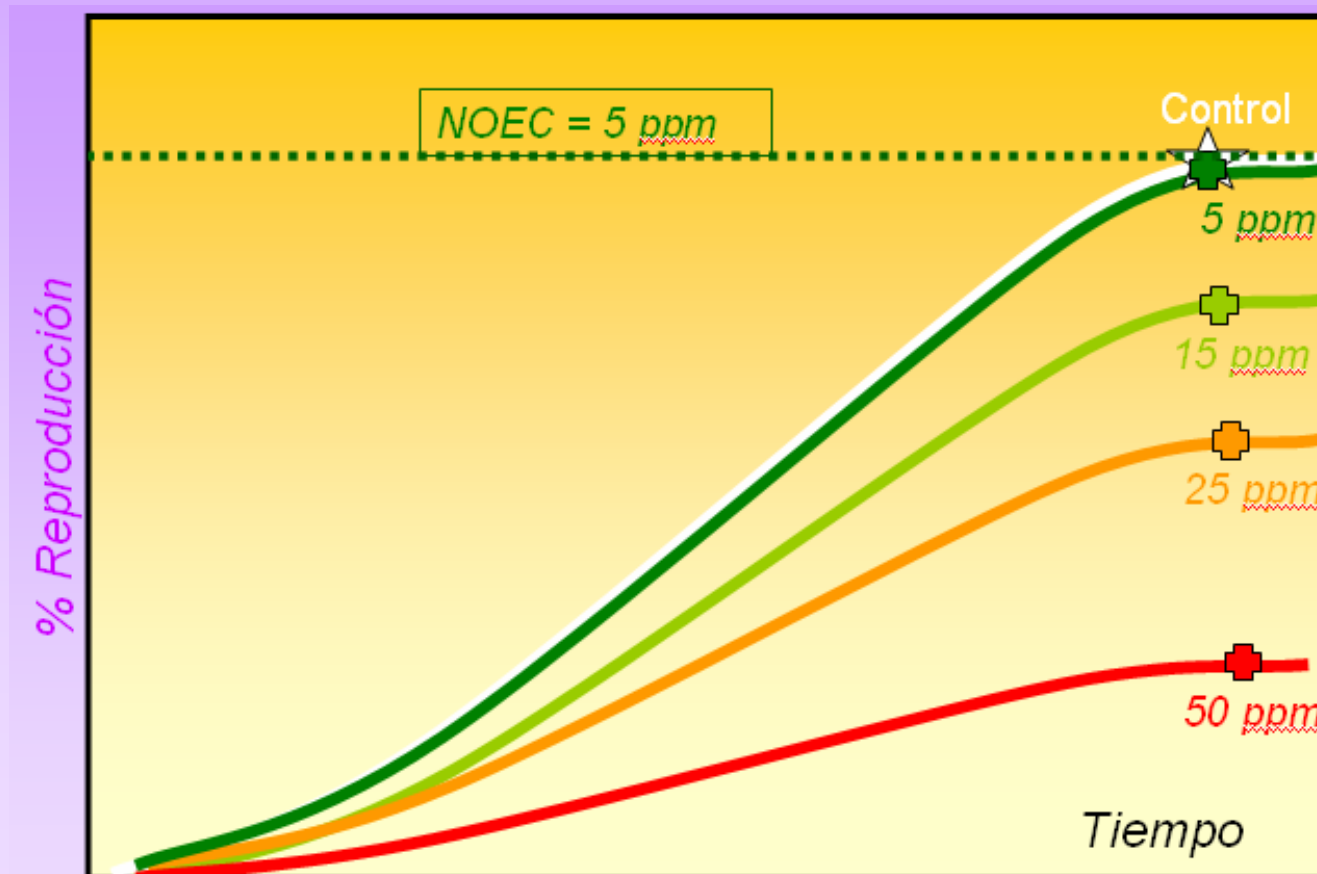


### 3. REACH: Principios de ecotoxicología

#### EXPRESION TOXICIDAD en ENSAYOS de ECOTOXICOLOGIA

Toxicidad crónica: NOEC y LOEC

LARGO PLAZO: Días /semanas /meses

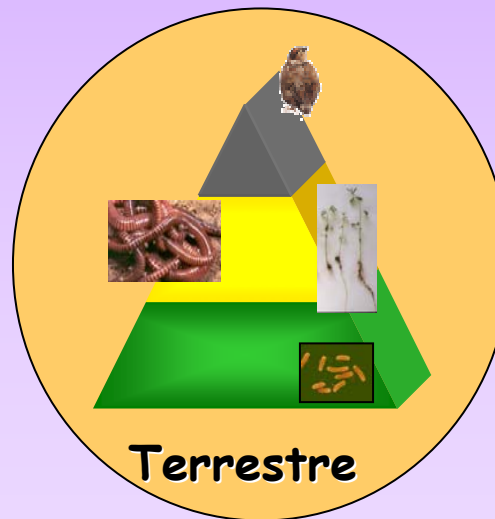




### 3. REACH: Principios de ecotoxicología

## COMPARTIMENTOS AMBIENTALES




### ENSAYOS DE ECOTOXICIDAD



### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN



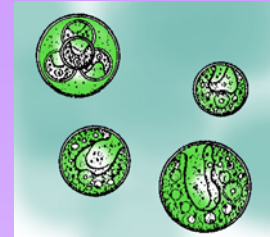
#### COMPARTIMENTO ACUATICO

Corto plazo		OECD 201. Ensayo de inhibición del crecimiento en algas
		OCDE 202. Ensayo de toxicidad aguda en <i>Daphnia magna</i>
		OCDE 203. Toxicidad aguda en peces

### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

#### OECD 201. Ensayo de inhibición del crecimiento en algas

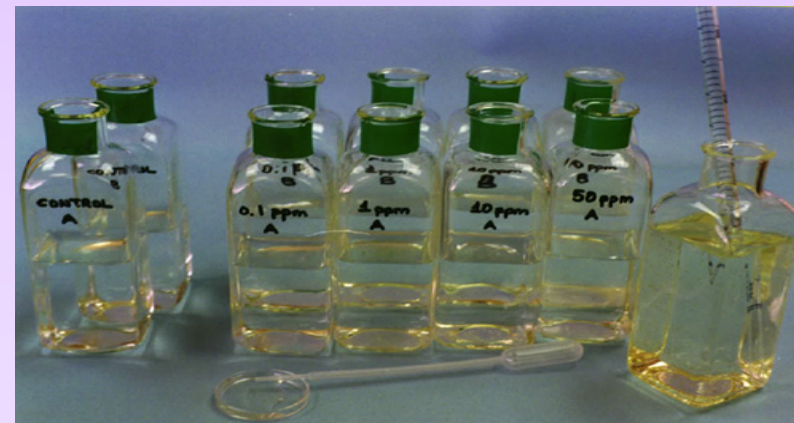
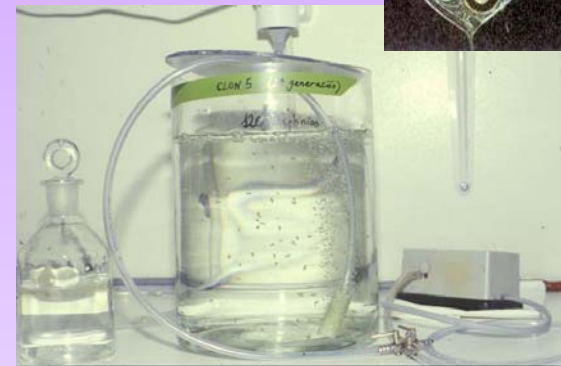
- Efecto: Inhibición del crecimiento en varias generaciones.
- Duración del ensayo: 72 horas
- Parámetro de expresión: CE50, NOEC.
- Necesidades: material, medio de ensayo, luz, T<sup>a</sup>, agitador.
- Organismo: alga unicelular de crecimiento rápido (16 veces en 3 días en controles).
- Procedimiento: 5 concen. y control. Factor < 2,2



### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

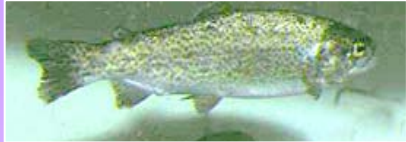
## OCDE 202. Ensayo de toxicidad aguda en *Daphnia magna*

- Efecto: Inmovilidad.
- Duración del ensayo: 48 horas
- Parámetro de expresión:  $CE_{50}$ .
- Necesidades: material vidrio, agua reconstituida, Fotoperiodo,  $T^a$ .
- Organismo: clon de *Daphnia magna* o *Daphnia pulex*
- Condiciones de ensayo: estático.
- Procedimiento: 20 animales/concen.
- 5 concentraciones, Factor > 2,2, triplicado



### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

## OCDE 203. Toxicidad aguda en peces

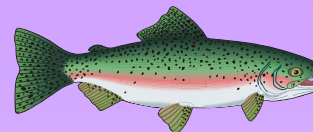
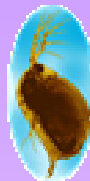


- Efecto: Letalidad.
- Duración del ensayo: 96 horas
- Parámetro de expresión: CL50,  $p= 0,05$ .
- Necesidades: acuarios, agua calidad, T<sup>a</sup> equipo medición agua, luz.
- Organismo: Especies piscícolas recomendadas
- Condiciones de ensayo: Estático, Semiestático y Dinámico.
- Procedimiento: 5 concentraciones y Control. Factor: 2,2. Duplicado.



### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

#### CLASIFICACIÓN PELIGRO: Compartimento Acuático



<b>Criterio <math>CL_{50}</math> mg/L <u>+ sensible</u></b>	<b>Clasificación</b>	<b>Clasificación peligro</b>
<b>&lt; 1</b>	<b>Muy tóxico</b>	<b>Alto (R 50)</b>
<b>1 - 10</b>	<b>Tóxico</b>	<b>Medio (R 51)</b>
<b>10 - 100</b>	<b>Nocivo</b>	<b>Bajo (R 52)</b>
<b>&gt; 100</b>	<b>No clasificado</b>	<b>Ninguno</b>

### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

#### • ENSAYO BIOACUMULACION EN PECES (OECD )



**BCF > 100**



- Duración: 28 días
- Parámetro de expresión: BCF en contenido de lípidos y peso corporal.
- Acuarios
- Especies piscícolas
- 2 concentr., + control (la + alta: 1% CL50, Factor: 10)

#### • ESTIMACION COEFICIENTE de PARTICION OCTANOL-AGUA: $K_{ow}$

Característica fisico-química:  $\text{Log } P_{ow} > 3$

### **3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN**

#### **OECD 301.- ENSAYO DE FACIL BIODEGRADABILIDAD**

#### **Condiciones aeróbicas**

#### **Características físicas de la sustancia**

301 A: DOC Die-Away

301 B: CO<sub>2</sub> Evolution

301 C: MITI (I)

301 D: Closed Bottle

301 E: Modified OECD Screening

301 F: Manometric Respirometry

**Rápidamente biodegradable DT<sub>50</sub> < 28 días**



### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

R 53 Puede causar efectos adversos a largo plazo en el medio acuático

   Toxicidad aguda	Biodegradación	Bioacumulación	 <i>Clasificación</i>
$CE_{50}$ (mg/L)	< 28 días	$\text{Log } P_{ow} \geq 3$ ó $\text{BCF} > 100$	
$\leq 1$	si	no	R50
$\leq 1$	si	no	R50/53
	no	si	
	si	si	
1-10	si	no	R51/53
	no	si	
	si	si	
10-100	no	si/no	R52/53

### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

#### FRASES R50-R59

R 50	Muy tóxico para organismos acuáticos
R 51	Tóxico para organismos acuáticos
R 52	Nocivo para organismos acuáticos
R 53	Puede causar efectos adversos a largo plazo en el medio acuático
R 54	Tóxico para la flora
R 55	Tóxico para la fauna
R 56	Tóxico para organismos del suelo
R 57	Tóxico para las abejas
R 58	Puede causar efectos adversos en el medioambiente
R 59	Peligroso para la capa de ozono

### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

CAS 75-09-2



## Ficha de Datos de Seguridad

#### 12. Informaciones ecológicas

Biodegradabilidad:  
Biodegradabilidad: 5-26 % /28 d (OCDE 301 C).  
No fácilmente biodegradable. Biodegradable tras adaptación.

Comportamiento en compartimentos ecológicos:  
Reparto: log P(o/w): 1.25 (experimentalmente) (Literatura).  
No es de esperar un notable potencial de bioacumulación (log Pow 1- 3).  
Constante de Henry: 329 Pa<sup>\*</sup>m<sup>3</sup>/mol (experimentalmente) (Literatura).  
Se reparte preferentemente en el aire.

Efectos ecotóxicos:  
Efectos biológicos:  
Toxicidad para los peces: P. promelas LC<sub>50</sub>: 193 mg/l /96 h (Base de datos ECOTOX).  
Toxicidad de dafnia: Daphnia magna CE<sub>50</sub>: 1682 mg/l /48 h (IUCLID).  
Tóxicidad para las algas: Selenastrum capricornutum CI<sub>50</sub>: >660 mg/l /96 h (IUCLID).  
Tóxicidad de bacterias: Photobacterium phosphoreum CE<sub>50</sub>: 2.88 mg/l /15 min (IUCLID).  
Protozoos: protozoos CE<sub>0</sub>: >16000 mg/l (Literatura).

Otras observaciones ecológicas:  
¡No incorporar a suelos ni acuíferos!

Fecha de emisión: 13.05.2007  
Reemplaza la emisión del 21.03.2007

#### 15. Información reglamentaria

*Etiquetado según Directivas de la CEE*

Pictograma:	Xn	Nocivo
Frases R:	40	Posibles efectos cancerígenos.
Frases S:	23-24/25-36/37	No respirar los vapores. Evitese el contacto con los ojos y la piel. Úsense indumentaria y guantes de protección adecuados.
Número CE:	200-838-9	Etiquetado CE

*Etiquetado reducido(1999/45/CE,art.10,4)*

Pictograma:	Xn	Nocivo
Frases R:	40	Posibles efectos cancerígenos.
Frases S:	36/37	Úsense indumentaria y guantes de protección adecuados.

### 3. REACH: Expediente técnico. CLASIFICACIÓN

#### 12. Informaciones ecológicas

Comportamiento en compartimentos ecológicos:  
log P(oct):: -0.33.

Efectos ecotóxicos:  
Fácilmente eliminable.  
Efectos biológicos: Muy tóxico para organismos acuáticos.  
Toxicidad de dafnia:  
Daphnia magna CL<sub>50</sub>: 29.7 mg/l /48 h  
Toxicidad para los peces:  
Leuciscus idus CL<sub>0</sub>: 10.5 mg/l /48 h  
Toxicidad para las algas:  
algas CE<sub>50</sub>: 0.61 mg/l /72 h.

Otras observaciones ecológicas:  
¡No incorporar a suelos ni acuíferos!

#### Ficha de Datos de Seguridad

Conforme a la Directiva 91/155/CEE de la Comisión  
02.2001 del CD-ROM 2001/1 E Fecha de emisión: 27.10.1999 Reemplaza la emisión del 23.09.1999

MERCK  
Schuchardt

Dr. Theodor  
Schuchardt & Co.

### Glutardialdehido: CAS 111-30-8

#### 3. Identificación de peligros

Nocivo por ingestión. Tóxico por inhalación. Provoca quemaduras. Posibilidad de sensibilización por inhalación y en contacto con la piel. Muy tóxico para los organismos acuáticos.

#### 15. Información reglamentaria

*Etiquetado según Directivas de la CEE*

Pictograma:	T N	Tóxico Peligroso para el medio ambiente
Frases R:	22-23-34-42-43-50	Nocivo por ingestión. Tóxico por inhalación. Provoca quemaduras. Posibilidad de sensibilización por inhalación y en contacto con la piel. <u>Muy tóxico para los organismos acuáticos.</u>
Frases S:	26-36/37/39-45-61	En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. Úsense indumentaria y guantes adecuados y protección para los ojos/la cara. En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstresele la etiqueta). Evítese su liberación al medio ambiente. Recábense instrucciones específicas de la ficha de datos de seguridad.

## 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química

**EVALUACIÓN EXPOSICIÓN**

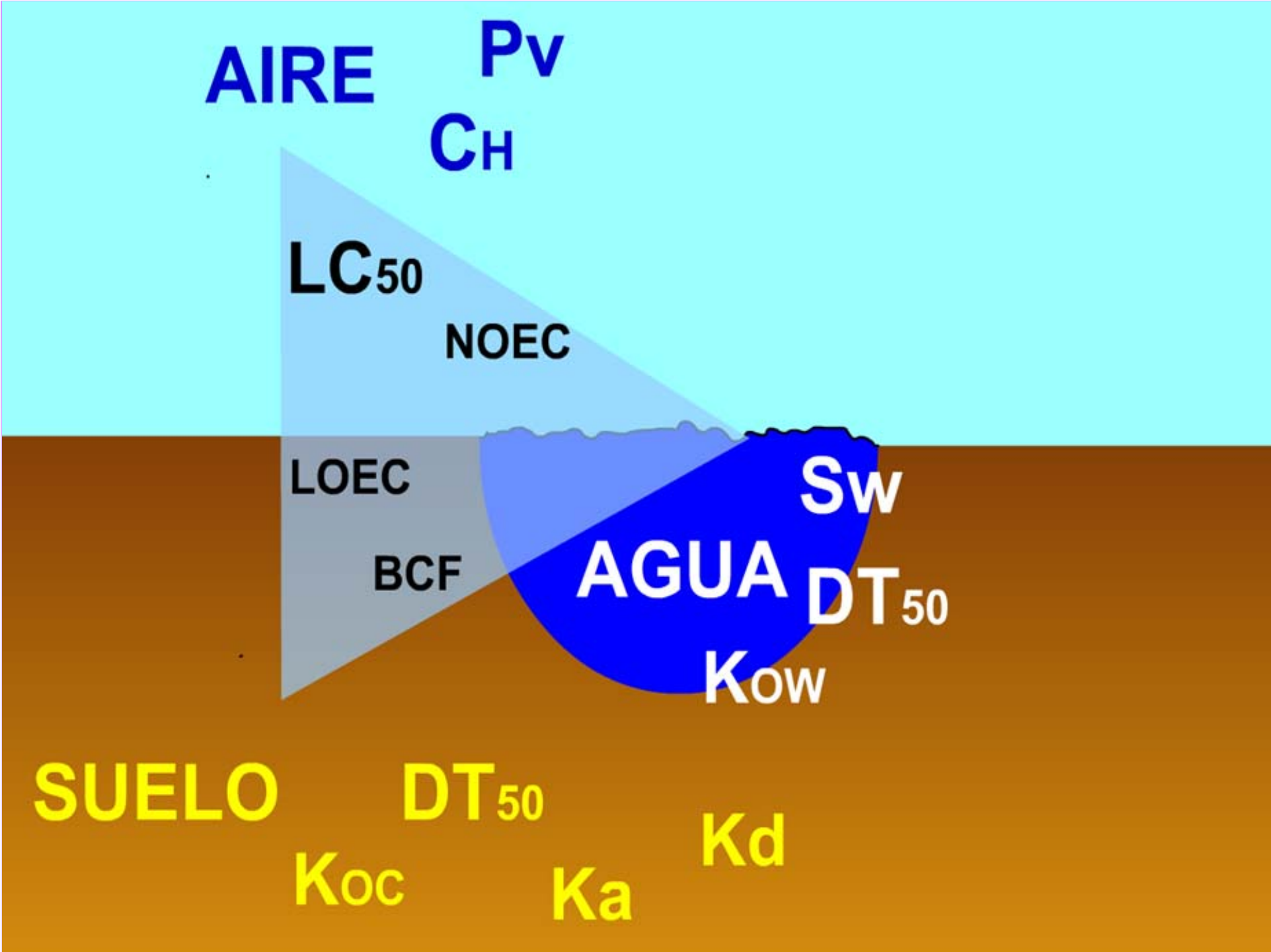
**EVALUACIÓN EFECTOS**

*PEC*

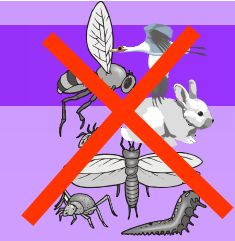
*PNEC*



- **Compartimento acuático**  
Columna de agua  
Sedimento
- **Compartimento terrestre**



## 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química



### EVALUACION DE EFECTOS Información Ecotoxicológica (punto 9)

**C. Acuático**

**Comportamiento  
ambiental**

#### **>1 Tonelada**

- Ensayo de toxicidad a corto plazo en invertebrados acuáticos (*daphnias*)  
(opcional cambiar por ensayo a largo plazo)
- Estudio de inhibición del crecimiento en plantas acuáticas
- Degradación biótica

**C. Acuático**

**Comportamiento  
ambiental**

#### **>10 Toneladas**

- Ensayo de toxicidad a corto plazo en peces  
(opcional cambiar por ensayo a largo plazo en peces )
- Ensayo de inhibición de la respiración en lodos activos
- Degradación abiótica, en función del pH
- Ensayo de adsorción/desorción

## 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química



**M. acuático**

### ➤ 100 Toneladas

- Ensayo de toxicidad a largo plazo en invertebrados acuáticos (*daphnias*)
- Ensayo de toxicidad a largo plazo en peces
- Ensayo de toxicidad en la primera fase de vida de los peces ó
- Ensayo de toxicidad a corto plazo en embriones de pez y alevines ó
- Ensayo de crecimiento en peces juveniles

**Comportamiento ambiental**

- Degradación biótica en aguas superficiales
- Ensayos de acumulación en suelos
- Ensayos de acumulación en sedimentos
- Identificación productos de degradación
  
- Bioconcentración en peces
- Ensayos adicionales de adsorción/desorción
  
- Ensayo de toxicidad a corto plazo en invertebrados
- Efectos en microorganismos del suelo
- Ensayo toxicidad a corto plazo en plantas.



## 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química



<b>Degradación</b>	<b>&gt;1.000 Toneladas</b>
<b>M. terrestre</b>	Ensayos adicionales de degradación biótica y abiótica en agua, suelo y sedimento  Ensayos de toxicidad a largo plazo en invertebrados Ensayos de toxicidad a largo plazo en plantas. Ensayos de toxicidad a largo plazo en organismos del sedimento Ensayos toxicidad a largo plazo para la reproducción en aves

### EXCEPCIONES

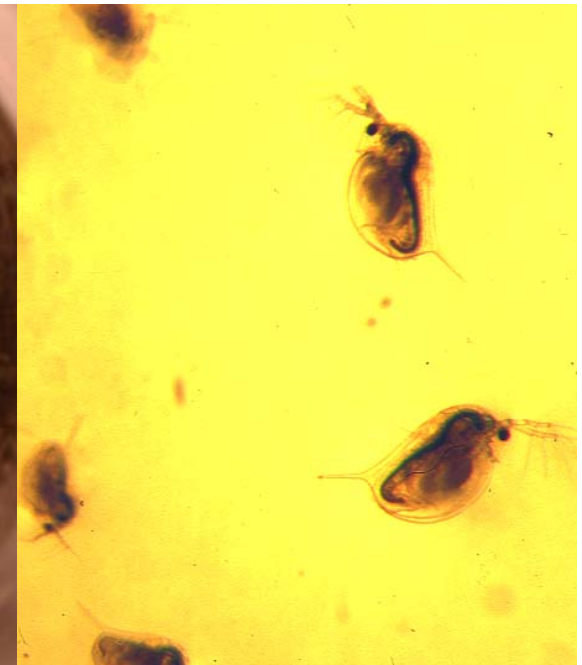
Baja solubilidad =  $S_w < 10 \mu\text{g/L}$

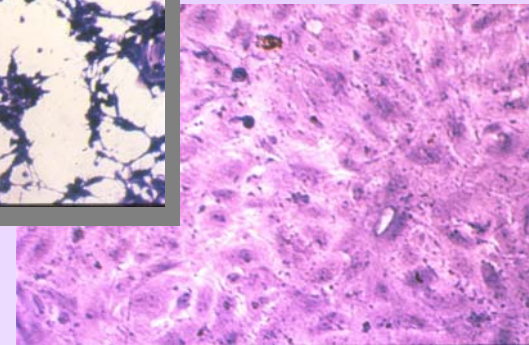
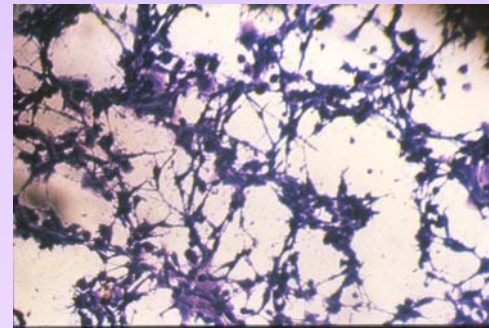
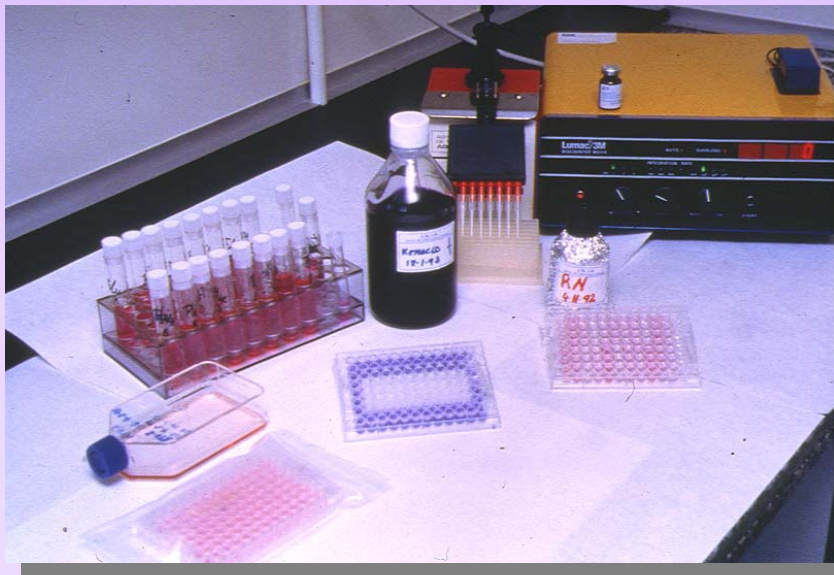
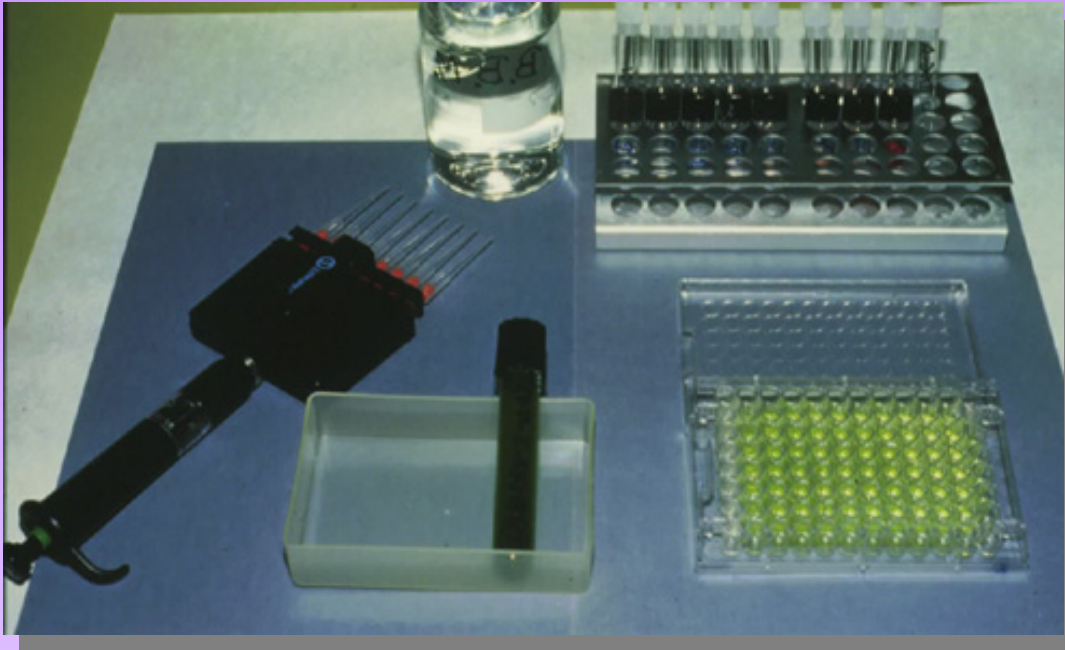
Baja capacidad para atravesar las membranas biológicas =  $P_m > 800$  ó diámetro molecular  $> 15 \text{ \AA}$

Fácilmente degradable

Poco probable que alcance el medio ambiente.

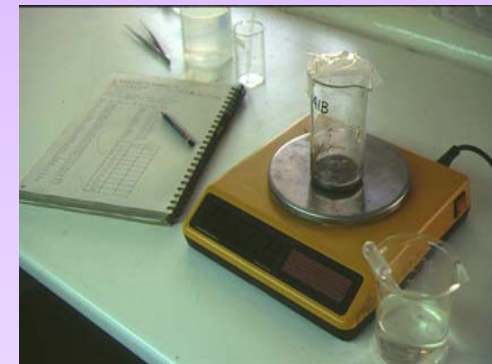
- Juveniles –24 horas.
- 10 juveniles/envase.
- 2 replicados/concentración.
- Concentraciones ~ Factor 1,8.
- Controles positivos y negativos.
- Luz/T<sup>a</sup>/medio.
- 24-48 horas.
- 0% y 100% de efecto.
- Cálculo de la CE50.
- Mortalidad en control + <10%.





## ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA/REPRODUCCIÓN EN LOMBRIZ DE TIERRA

- **Efecto:** letalidad/reproducción
- **Duración del ensayo:** 14 días/28 días
- **Parámetro de expresión:** CL50/NOEC
- **Necesidades:**
  - tierra artificial (sustrato básico)
  - luz (400 a 800 lux)
- **Organismo:** *Eisenia fetida* de 2 meses de edad/*con clitelo*.
- **Procedimiento:**
  - 10 lombrices /lote
  - 4 lotes/concen
  - 5 concentraciones
  - Control +
  - Factor < 1,8
- **Validación:**
  - <10% mortalidad; ≠ 30% con respecto al control



## ENSAYO DE CRECIMIENTO EN PLANTAS TERRESTRES



- **Efecto:**
  - germinación de semillas
  - crecimiento del tallo
  - elongación de raíces
  - número de hojas
- **Duración del ensayo:** 14 Días
- **Parámetro de expresión:**  $CL_{50}$
- **Necesidades:**
  - tierra artificial (sustrato básico)
  - luz (400 a 800 lux)
- **Organismo:** *semillas*
- **Procedimiento:**
  - 10 semillas/lote
  - 5 lotes/concentración
  - 5 concentraciones
  - Control +
  - Factor <1,8
- **Validación:**
  - <10% mortalidad/ ≠ 30% control



- **OECD 223. Ensayo de toxicidad oral aguda en aves.**

Especies recomendadas: Codornices y ánade real  
Parámetro de expresión: LD50



- **OECD 206. Ensayo de reproducción en aves.**

Especies recomendadas: Codornices y ánade real  
Parámetro de expresión: NOEC



## ENSAYO DE TOXICIDAD EN VERTEBRADOS TERRESTRES

**Información de Ensayos de toxicidad en vertebrados utilizados para determinar toxicidad humana**



ENSAYO DE DEGRADACIÓN BIÓTICA EN SUELOS

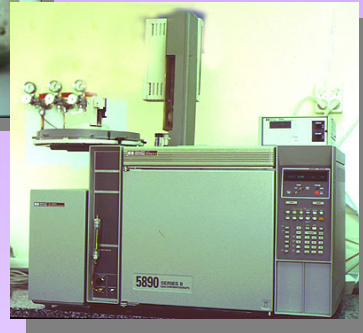
ENSAYO DE DEGRADACIÓN ABIÓTICA EN FUNCIÓN DEL pH

ENSAYO DE ADSORCIÓN/DESORCIÓN

Koc

DT<sub>50</sub>  
suelos

DT<sub>50</sub>  
agua



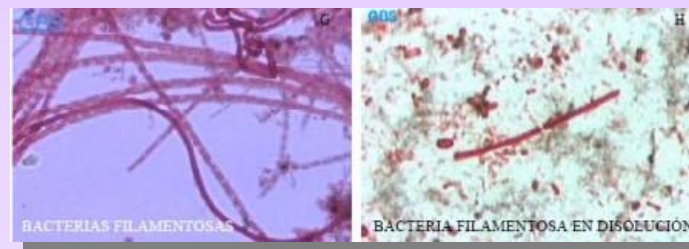
- Aplicación de la sustancia-C<sup>14</sup>
- Mantenimiento condiciones T<sup>a</sup>, luz humedad
- 3 tipos de suelo
- Duración máxima = 120 días
- Identificación: % Degradación en suelo (CO<sub>2</sub>)

Volátiles

Extraíbles (metabolitos >10%)

No extraíbles (>70%)

ENSAYO DE INHIBICIÓN DE LA RESPIRACION LODOS ACTIVADOS





## 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química



Se consideran todos los estudio de efectos

Se calcula para cada compartimento ambiental

Selección del dato de toxicidad más sensible y división por un factor de seguridad ó evaluación que varia según el de información disponible

**RESULTADOS DE  
ENSAYOS DE  
ECOTOXICIDAD  
CL50 , NOEC**

**:**

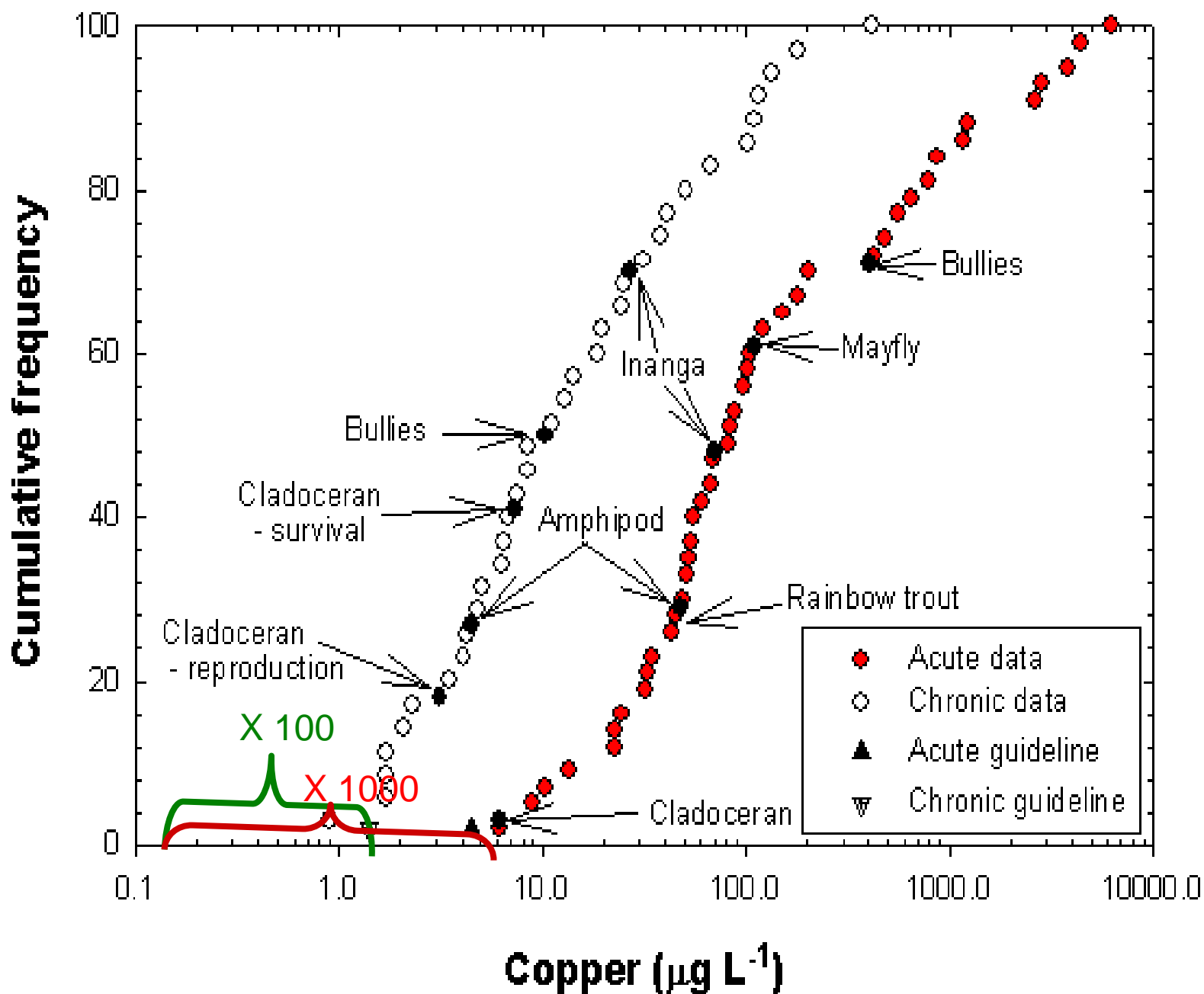
**FACTOR DE  
EVALUACION**

**=**

**PNEC**

Información disponible	Factor de seguridad
3 datos (LC <sub>50</sub> ) en 3 niveles tróficos ≠	1000
Datos de cronicidad en el nivel trófico más sensible	100
Datos de cronicidad en dos niveles tróficos	50
Datos de cronicidad en tresniveles tróficos	10
Mesocosmos o datos de campo	Caso por caso

Figure 1. Acute and chronic copper guidelines and data. Hardness = 30 mg L<sup>-1</sup>.



## 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química



$$\text{PEC agua} = \text{PEC}_{\text{inicial}} * e^{-(\ln 2 / DT_{50}) * t}$$

$$\text{PEC agua promediada} = \text{PEC}_{\text{inicial}} * (1 - e^{-(\ln 2 / DT_{50}) * t}) / (\ln 2 / DT_{50}) * t$$

$$\text{PEC sedimento} = \frac{O_w + K_p * O_s * d_{\text{solid}}}{d_{\text{sed}}} * \text{PEC}_{\text{agua}}$$

$$\text{PEC suelo} = \text{PEC}_{\text{inicial}} * e^{-(\ln 2 / DT_{50}) * t}$$

$$\text{PEC suelo promediada} = \text{PEC}_{\text{inicial}} * (1 - e^{-(\ln 2 / DT_{50}) * t}) / (\ln 2 / DT_{50}) * t$$

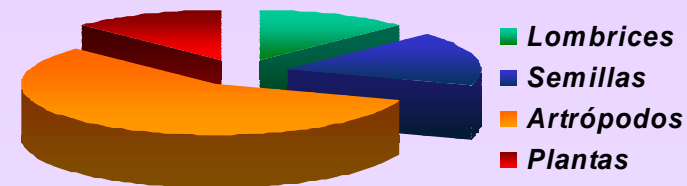
$$\text{PEC oral} = \sum T_{la} * [\text{plantas}] * P_a + T_{li} * [\text{invertebrados}] * P_a + \sum T_{ls} * [\text{suelo}] * P_s + \sum T_{lw} * [\text{agua}] * P_w$$



TI

$$[\text{plantas}] = [\text{suelo}] * \text{BCF} * 0,12$$

$$[\text{invertebrados}] = [\text{suelo}] * \text{BCF}$$



$P_a$

## 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química



**VetCalc Results**

Soil      Groundwater      Surface Water

Soil PEC

Predicted concentration of active substance in soil (immediately after individual application event) (mg/kg):

Soil Dissipation

Days after Application Event:	Predicted Concentration in Soil (mg/kg):	Time-Weighted Average Concentration (mg/kg):
1 Day	1.99E-01	2.01E-01
2 Days	1.94E-01	1.99E-01
4 Days	1.86E-01	1.94E-01
7 Days	1.73E-01	1.88E-01
14 Days	1.47E-01	1.74E-01
21 Days	1.25E-01	1.61E-01
28 Days	1.07E-01	1.50E-01
42 Days	7.71E-02	1.30E-01
50 Days	6.41E-02	1.21E-01
100 Days	2.02E-02	7.93E-02

Simulation Details

Active Substance:

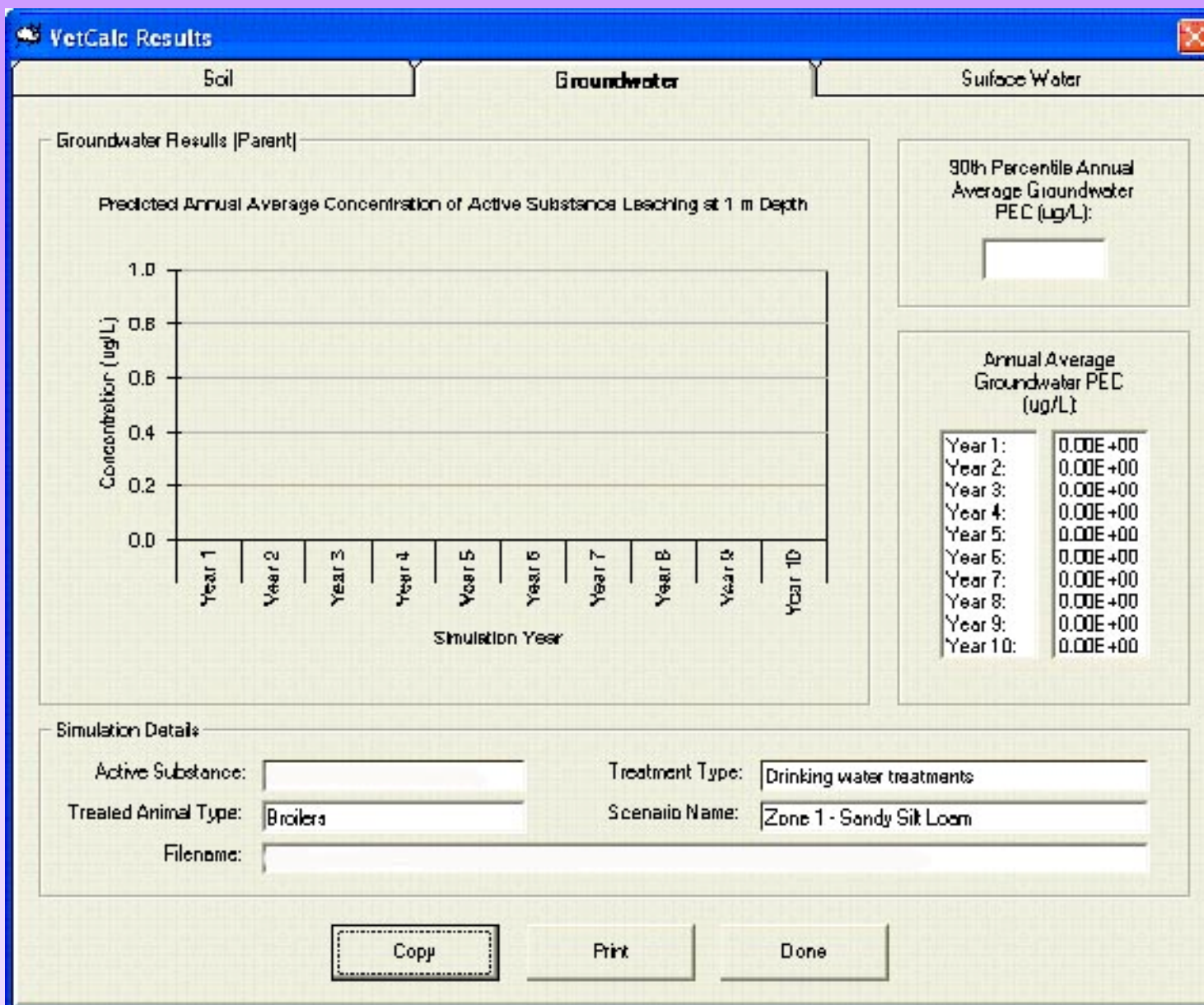
Treatment Type:

Treated Animal Type:

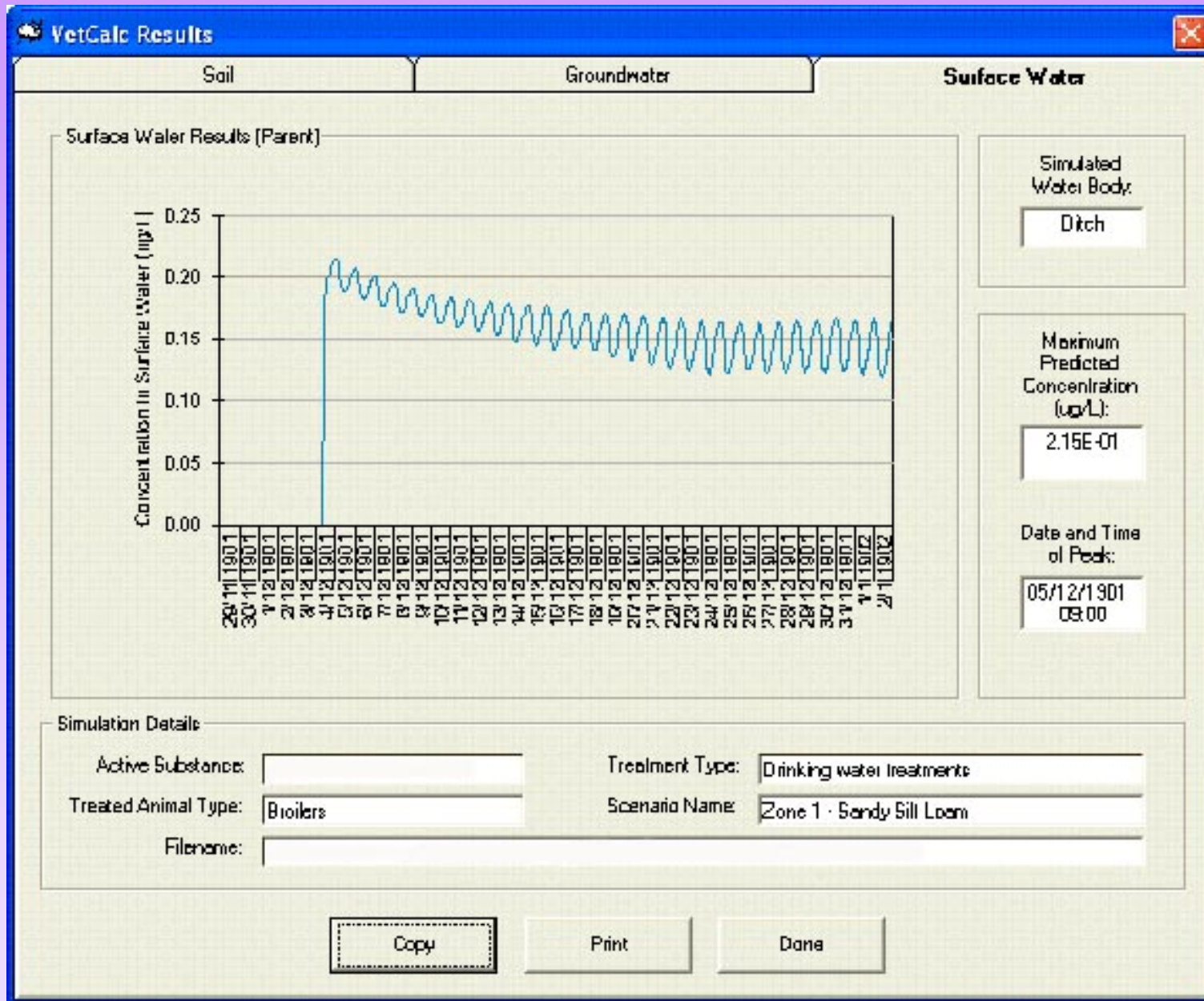
Scenario Name:

Filename:

# 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química



# 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química




# 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química

## CALCULO DEL RIESGO MEDIOAMBIENTAL.

PEC: PREDICTED ENVIRONMENTAL CONCENTRATION  
 CONCENTRACIÓN ESTIMADA DEL VERTIDO (O SUSTANCIA)  
 EN EL MEDIO RECEPTOR

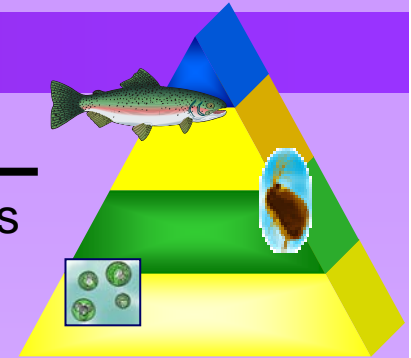
PNEC: PREDICTED | NON EFFECT . CONCENTRATION  
 CONCENTRACIÓN ESTIMADA SIN RIESGO (PARA LOS  
 ORGANISMOS DEL MEDIO)

$\frac{PEC}{PNEC} < 1$  NO HAY RIESGO  
 (PEC < PNEC) 

$\frac{PEC}{PNEC} \geq 1$  HAY RIESGO  
 (PEC ≥ PNEC) 

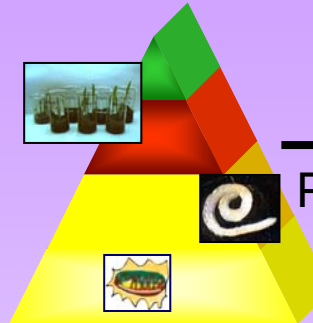
PEC agua

PNEC organismos acuáticos



PEC suelo

PNEC organismos suelo



PEC sedimento

PNEC organismos sedimento



PEC alimento

PNEC oral vertebrados



PEC depuradoras



PNEC microorganismos

## 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química



- *Toxicidad crónica*
- *Biacumulación*
- *Lixiviación*
- *Degradación*





## 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química

### Criterios para identificar Sustancias PBT

#### (Anexo XIII)

Persistencia (P)	Bioacumulación (B)	Toxicidad (T)
DT <sub>50</sub> > 60 días Agua marina	BCF > 2000	NOEC < 0,01 mg/L
DT <sub>50</sub> > 40 días agua dulce o estuario		Carcinógena 1,2 Mutágena 1,2 Tóxica para la reproducción 1,2 (CMR)
DT <sub>50</sub> > 180 días Sedimentos marino		Toxicidad crónica (T, R48, Xn, R48 Directiva 67/548/CEE)
DT <sub>50</sub> > 120 días sedimentos agua dulce o estuario		
DT <sub>50</sub> > 120 días suelos		

## 4. REACH: Evaluación de la Seguridad Química

### Criterios para identificar Sustancias MPMB

(Anexo XIII)

Muy Persistente (MP)	Muy Bioacumulable (MB)
$DT_{50} > 60$ días Agua marina, dulce, estuaria	$BCF > 5000$
$DT_{50} > 180$ días sedimento a. marino, dulce, estuario	
$DT_{50} > 180$ días suelo	

**Muchas gracias  
por  
vuestra atención**



# Cursos de Verano 2008

18 01/UAH

Alcalá de Henares



Programa, registro, evaluación, autorización  
y restricción de las sustancias y de los  
preparados químicos. REACH

Directores: Eduardo de la Peña de Torres  
M<sup>a</sup> José González Muñoz  
Ana de la Torre Reoyo

# REGISTRO, EVALUACIÓN, AUTORIZACIÓN Y RESTRICCIÓN DE LAS SUSTANCIAS Y DE LOS PREPARADOS QUÍMICOS. REACH Curso de Verano de la Universidad de Alcalá

Alcalá de Henares, 1 – 4 de julio, 2008

## • **Martes, 1 de julio de 2008**

- 17.00 Registro y Documentación
  - Inauguración
- 18.00 - 19.15 Introducción al REACH
  - *Dra. Covadonga CABALLO DIEGUEZ*
- 19.00 – 19.45 Introducción a la Toxicología de los Productos Químicos
  - *Dra. Guillermina FONT PEREZ*

## • **Miércoles, 2 de julio de 2008**

- 09.30 - 10.15 Valoración de los Peligros para la Salud Humana
  - *Dra. M<sup>a</sup> José GONZÁLEZ MUÑOZ*
- 10.30 - 11.15 Valoración de la Mutagenicidad
  - *Master Óscar HERRERO FELIPE*
- 11.30 - 12.00 Pausa
- 12.00 - 12.45 Ensayos *in vitro*
  - *Dra. M<sup>a</sup> José HAZEN SAN JUAN*
- 13.00 – 13.45 Valoración de la Carcinogenicidad
  - *Dr. Eduardo de la PEÑA de TORRES*
- 17.00 - 17.45 Valoración de la Toxicidad para la Reproducción
  - *Prof. Nicolás OLEA SERRANO*
- 18.00 - 20.00 Taller sobre Búsqueda de datos.
  - *Dr. Guillermo REPETTO KUHN*
  - *Dra. Carmen José MATEOS VEGA*
  - *Lda. Araceli PILLCO TITO*

# REGISTRO, EVALUACIÓN, AUTORIZACIÓN Y RESTRICCIÓN DE LAS SUSTANCIAS Y DE LOS PREPARADOS QUÍMICOS. REACH

## Curso de Verano de la Universidad de Alcalá

Alcalá de Henares, 1 – 4 de julio, 2008

### • **Jueves, 3 de julio de 2008**

- 09.30 – 10.15 Evaluación de la Seguridad Química para la Salud Humana.  
• *Dra. Esther MARTÍN de DIOS*
- 10.30 - 11.15 Aspectos generales de la puesta en marcha del REACH  
• *Dra. Fernando ESCORZA MUÑOZ*
- 11.30 - 12.00 Pausa
- 12.00 - 12.45 Seguimiento de la aplicación del REACH  
• *Dra. María TARANCÓN ESTRADA*
- 13.00 - 13.45 Impacto del REACH en la Industria Química  
• *Dr. Xavier BARAZA SÁNCHEZ*
- 17.00 - 20.00 Taller sobre la Aplicación del REACH  
• *Covadonga CABALLO, Esther MARTÍN, Fernando ESCORZA ,*  
• *María TARANCÓN, Xavier BARAZA.*  
• *Coordina: Ana de la TORRE*

### • **Viernes, 4 de julio de 2008**

- 09.30 - 10.15 Evaluación de la Seguridad Química para el Medio Ambiente. 1  
• *Dra. Matilde CARBALLO SANTAOLAYA*
- 10.30 - 11.15 Evaluación de la Seguridad Química para el Medio Ambiente.2  
• *Dra. Ana de la TORRE REOYO*
- 11.30 - 12.00 Pausa
- 12.00 - 13.00 Encuesta
- Clausura - Entrega de Diplomas

## Identificación del peligro

- Recopilación de datos
  - Varias fuentes
  - Estudios de toxicología y epidemiología
- La información debe contestar:
  - ¿Produce efectos nocivos la exposición a la sustancia?
  - Sí ¿cuáles son las circunstancias asociadas a la exposición?





# Modelos celulares

omifero son

roducibles





Evaluación de l

■ Evaluación de l  
mamíferos. Pro

- TG 421 Métod  
reproducción y e

- TG 422 Estudi  
y cribado de toxi  
(1996)

- TG 415/B34 E  
generación (198



## Ej. Cor

- Test en (Draize) estrateg
- TER - Re Eléctrica Transcut (B.40)
- Piel Hum Reconsti US):
  - EpiDerm
  - EpiSkin
- Corrosite colágeno ácidos, ba derivados CPSC(ECVAM)

VIDEOGRABACIÓN  
24 HORAS

SA























SALIDA

VIDEGRABACION  
24 HORAS

Día de...







SALIDA

VOTACION DE HORAS











Procesos, registro, evaluación, autorización  
y monitoreo de las instancias y de las  
empresas privadas. REACH

Departamento Especial de la Unión de México  
1998-2000  
Módulo de Evaluación



Red Iberoamericana de Toxicología y Seguridad Química

Buscar...



INICIO

ACERCA DE LA RITSQ

HISTORIA

MIEMBROS

ARCHIVOS

CONGRESOS

CONTACTO



← I Jornadas sobre Aplicación de las nuevas Tecnologías a la Difusión y Enseñanza de la Farmacología y la Toxicología

EFSA invites leading scientists to sign up to its new expert database →

#### Cumpla con REACH

¿ Necesita cumplir con REACH ?  
Sustancias químicas, empresas



#### Cursos Toxicología.

Buscador de Cursos de Toxicología.  
Compara Precios y Datos de Cursos.

Anuncios Google

Programa, registro, evaluación, autorización y restricción de las sustancias y de los preparados químicos. REACH

Por Óscar Herrero · 13 Junio 2008 · Sin Comentarios

Miembros (regístrate aquí y únete a los 306 miembros actuales)

Nombre de usuario:

Contraseña:

Recordarme

Entrar »

[Registrarse](#)

[¿Has perdido tu contraseña?](#)

[Listado de Miembros](#)

#### ADECAL Alimentaria

APPCC. Seguridad alimentaria  
Profesionales del sector  
[www.adecal.com](http://www.adecal.com)

#### Organización de Congresos

y Actos Públicos. Titulación de la  
Universidad Camilo José Cela  
Madrid  
[www.formatik.com](http://www.formatik.com)



Anuncios Google

# Cursos de Verano 2008

18 01/UAH

Alcalá de Henares



Programa, registro, evaluación, autorización  
y restricción de las sustancias y de los  
preparados químicos. REACH

Directores: Eduardo de la Peña de Torres  
M<sup>a</sup> José González Muñoz  
Ana de la Torre Reoyo

Curso Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de las sustancias y preparados químicos.REACH.  
 Universidad de Alcalá. 1-4 julio 2008

Nombre	Apellidos	Organismo	mail
Xavier	Barazá Sánchez	Derivados Químicos S.A.	baraza@derivadosquimicossa.es
Covadonga	Caballo Diéguez	Ministerio de Sanidad y Consumo	ccaballo@msc.es
Victor	Calvo Villanueva	MAXAMCorpSau	vcalvo@maxam-europe.com
Elisa	Capellán Montoto	Rivendell International, Ltd (Consultoría)	elisa.capellan@rivendell.es
Matilde	Carballo Santa Olalla	INIA. Valdeolmos (Madrid)	carballo@inia.es
Ana	de la Torre Reovo	INIA. Valdeolmos (Madrid)	torre@inia.es
Fernando	Escorza Muñoz	Consejería de Salud	sanidad.ambiental@larioja.com
Carmen	Estevan Martínez	Universidad Miguel Hernández de Elche	cestevan@umh.es
Jorge	Estévez Domènech	Universidad Miguel Hernández	jorge.estevez@umh.es
Carlos	Fernández Portillo	TRAGSA	cfep@tragsatec.es
Guillermina	Font Pérez	Universidad de Valencia	guillermina.font@uv.es
Silvia	Galindo Parrés	Antonio Puig S.A.	silvia.galindo@puig.es
Francisco	García Alonso	Olipes	franciscog10@vahoo.es
Eva M <sup>a</sup>	García Noguero	Universidad de Castilla La Mancha	eva.garcia@uclm.es
Irantzu	Garmendia Aguirre	CIMAS	irantzu.garmendia@cimasconsultores.com
Jorge	Gómez Benavides	Grupo INTERLAB S.A.	igomez@interlab.es
M <sup>a</sup> José	González Muñoz	Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares	mariaiose.gonzalez@uah.es
Belen	González Villajos	Industria de Turbo Propulsores	belen.gonzalez@itp.es
M <sup>a</sup> José	Hazen Sanjuan	Facultad Ciencias Biológicas.UAM	mariaiose.hazen@uam.es
Óscar	Herrero Felipe	CSIC	oscar.herrero@ccma.csic.es
Esther	Martín de Dios	Ministerio de Sanidad y Consumo	emartind@msc.es
Carmen José	Mateos Vega	Universidad de Alcalá	carmen.mateos@uclm.es
Begoña	Melgosa Escalante	Grupo INTERLAB S.A. - Andalucía	bmelgosa@interlab.es
Nicolás	Olea Serrano	Universidad de Granada	nolea@ugr.es
Eduardo de la	Peña de Torres	CSIC	epeña@ccma.csic.es
M <sup>a</sup> Concepción	Peña Pérez	TRAGSA	mcpen@tragsatec.es
Ricardo	Pérez Sanz	Universidad de Alcalá de Henares	ricardo.Pérez@uah.es
Araceli	Pillco Tito	CSIC	celvarita@ccma.csic.es
M <sup>a</sup> Jesús	Polo Corpa	ICTP. CSIC	mipcorpa@hotmail.es
Josep M <sup>a</sup>	Reig	Antonio Puig S.A.	iosepmaria.reig@puig.es
Guillermo	Repetto Kuhn	Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses	repetto@us.es
Ricardo	Rodríguez	OLIPES	R.sanjuan@terra.es
Jose M <sup>a</sup>	Sánchez Montero	Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid	jsánchez@farm.ucm.es
David	Santos Angilo	Universidad de Alcalá de Henares	angulitromero@hotmail.com
María	Tarancon Estrada	DG. Salud Pública y Participación	maria.tarancon@juntadeandalucia.es
Javier	Utande	Universidad Complutense de Madrid	javierutande@hotmail.com