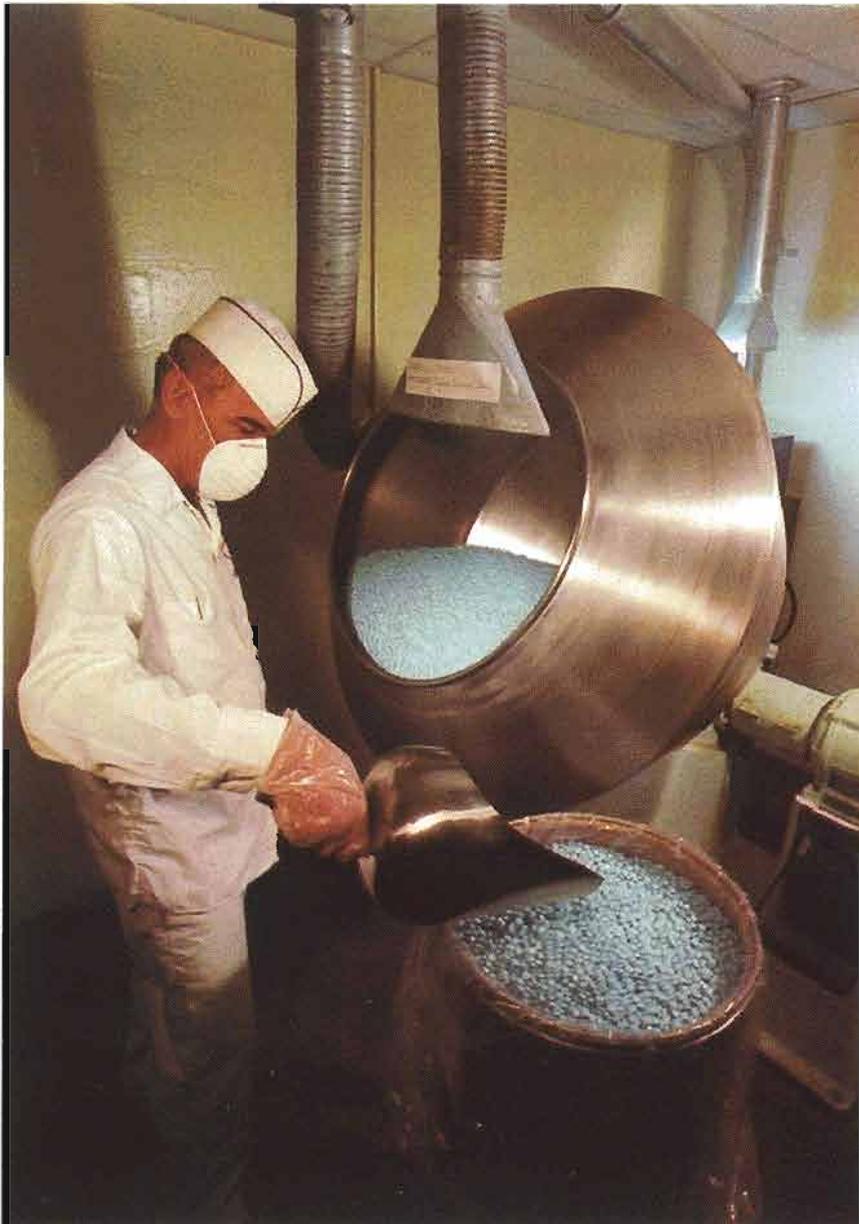


*La toxicidad es un concepto enormemente relativo que depende de la cantidad de peso absorbido por unidad de peso corporal, del tipo de efecto elegido como referencia, de la vía de absorción, del estado fisiológico del sujeto y sus ritmos biológicos, de las condiciones ambientales, etcétera.*

# Valoración de la toxicidad de las sustancias químicas

MANUEL REPETTO

*Director del Instituto Nacional de Toxicología. Sevilla. Profesor Titular de Toxicología.*



**D**ECIMOS que una sustancia es tóxica cuando absorbida por los seres vivos a pequeñas dosis, les produce efectos nocivos. Consecuentemente, la toxicidad es un concepto enormemente relativo que depende fundamentalmente de la cantidad de producto absorbido por unidad de peso corporal y del tipo de efecto elegido como referencia (irritación cutánea, oftálmica o pulmonar, alteración de un parámetro o respuesta fisiológica, la producción de cáncer, la muerte, etc.). Además son circunstancias concomitantes, la vía de absorción, el estado fisiológico del sujeto y sus ritmos biológicos, las condiciones ambientales, etc.

Aunque se hacen grandes esfuerzos para descubrir los principios que relacionan la estructura química con el efecto farmacológico o tóxico que produce, aún no es posible deducir la toxicidad de una sustancia mediante consideraciones teóricas. Por ello, para evaluar la toxicidad hay que recurrir a información empírica, que se obtiene de dos formas: a) recolección de datos retrospectivos sobre la afectación de los seres vivos por el contacto con tales sustancias, lo que frecuentemente es una información incompleta y muy subjetiva, y b) la experimentación con animales, vegetales y, en su caso, con el hombre.

Podemos esquematizar que la peligrosidad de una sustancia depende de:

a) Sus *características físico-químicas*, de las que se derivarán de las posibilidades toxicocinéticas, en la absorción, distribución, metabolismo y excreción por los organismos.

b) La *potencialidad tóxica*, o toxicidad inherente a la sustancia, parámetro que está en función inversa de la dosis tóxica o proporción necesaria para producir efectos nocivos.  $PT = (1/$

DT). Es una cualidad relativa, porque una misma dosis de una sustancia dada puede producir efectos de muy distinta gravedad en las diversas especies, e incluso entre los diferentes individuos de una misma especie.

c) *La probabilidad* de que se absorba la sustancia y la frecuencia con que esto pueda ocurrir, factores ambos de los que será función directa el *riesgo*, definido como probabilidad de presentación del correspondiente efecto tóxico.

Según esto, para preservar la salud de los humanos y la integridad de su medio ambiente debieran conocerse todas estas características antes de permitir la comercialización de un producto químico, y a este fin se dirige una abundante legislación aparecida durante los últimos 15 años.

Tanto las legislaciones nacionales como las promulgadas por organismos supranacionales contemplan separadamente la determinación o valoración de la toxicidad de las sustancias químicas según sea la aplicación a que se destinan; así encontraremos cuatro grandes grupos de normativas, dedicadas respectivamente a:

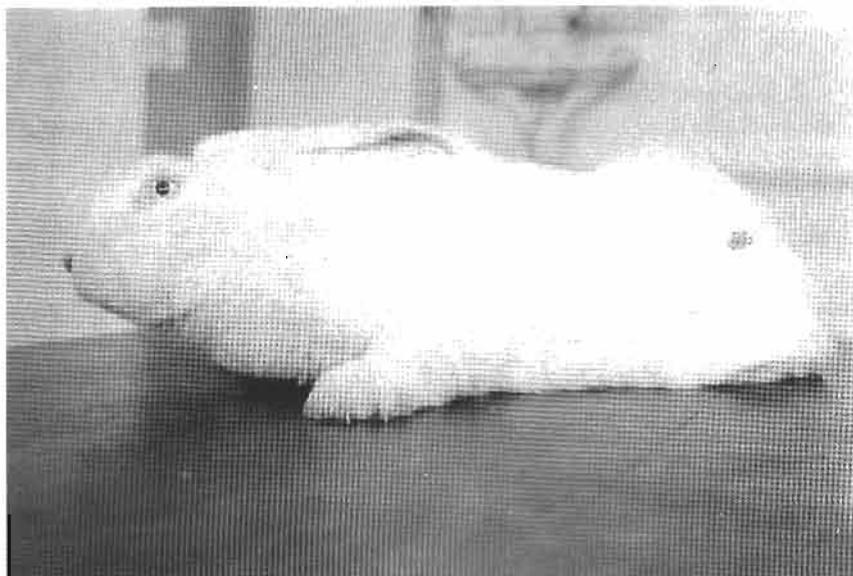
1.—Sustancias de aplicación industrial y con incidencia en la salud de quienes las fabrican o manipulan y sobre preservación de ecosistemas.

2.—Sustancias que se emplean como aditivos alimentarios usados para conservar los alimentos o para homogeneizar o estandarizar sus características organolépticas.

3.—Sustancias empleadas como medicamentos.

4.—Sustancias dedicadas a la lucha contra plagas (plaguicidas). A pesar del riesgo inherente a los plaguicidas de uso doméstico, las legislaciones consideran preferentemente los productos de aplicación en el campo, incluidos bajo la denominación de agroquímicos, más extensa que la de fitosanitarios.

Por el prolongado uso o contacto que el hombre puede tener con estas sustancias, las calificaciones de toxicidad no pueden limitarse a la capacidad de producir intoxicaciones agudas, sino que actualmente suele ser objeto de mayor atención por parte de los legisladores la valoración de la capacidad para inducir trastornos tóxicos a largo plazo, y no sólo los procesos crónicos, sino también la carcinogénesis y la teratogénesis.



Las distintas legislaciones aparecidas hasta la fecha presentan diferencias de variable importancia, pero se está produciendo un acercamiento y homologación internacional gracias a la influencia de la Comunidad Económica Europea (CEE) y la Organización de Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE), así como del Programa Internacional de Seguridad Química (CSIP) y del Registro Internacional de Sustancias Químicas Potencialmente Tóxicas (RIQPT), dependientes de la OMS.

De esta manera se están estableciendo de común acuerdo los protocolos para el ensayo de las sustancias y la aceptación mutua de los datos que hayan sido obtenidos conforme a los principios de la llamada "buena práctica de laboratorio".

Aunque la unificación o "armonización" de los protocolos es un proceso básico y fundamental, la aceptación sistemática por cualquiera de los países de la valoración de la toxicidad efectuada en otro, presenta a nuestro juicio dos graves inconvenientes.

a) La generación de un tipo de colonización toxicológica o sanitaria, que significará un freno al desarrollo de esta parcela científica en algunos países.

b) La inapropiada consideración de los efectos nocivos que puedan producirse por las sustancias en las poblaciones (flora y fauna) propias de cada país, tanto por lo que se refiere a la idiosincrasia, como en lo que se deriva de los factores modificantes de la toxicidad, como el clima, la alimentación, el uso de otros productos químicos, etcétera.

Aunque parezca extraño, en estos momentos la normalización tiene que empezar por los conceptos más básicos de la Toxicología, como son las definiciones de toxicidad aguda, subaguda, crónica, subcrónica, etc., así como la interpretación que se debe dar a los datos de su evaluación.

Nos parece oportuno recoger aquí las más recientes recomendaciones de los expertos de la OCDE en este sentido. Así:

**Toxicidad aguda** es la capacidad de una sustancia para producir efectos adversos en corto tiempo (menos de 24 horas) después de la absorción de una dosis única o de varias dosis dentro de las 24 horas. Sin embargo, no debe olvidarse que existen sustancias como el paraquat, que precisan un largo tiempo de inducción, hasta 12-14 días después de la absorción, para manifestar el efecto.

**Toxicidad subaguda.** Se ha estimado que este concepto es origen de confusiones y se debe evitar, sustituyéndolo por el de toxicidad subcrónica.

**Toxicidad subcrónica,** que es la capacidad para producir efectos nocivos tras la absorción de repetidas dosis a lo largo de un período inferior al 10 por 100 de la vida del individuo. Según la National Academy of Sciences (USA), para los animales habitualmente usados en la experimentación, este período varía de unos días a 6 meses; en líneas generales se consideran períodos de 1 a 3 meses.

Deben evitarse las denominaciones de corto, medio y largo plazo por su ambigüedad.

Otro de los criterios revisados, con

*Aún no es posible deducir la toxicidad de una sustancia mediante consideraciones teóricas; hay que recurrir a información empírica mediante la recolección de datos retrospectivos y la experimentación.*

*Conejo albino neozelandés, reglamentario para dermatotoxicología.*

la conformidad de los toxicólogos más preeminentes, es la trascendencia que se debe dar al concepto dosis letal media (DL-50). Por definición, es la dosis única, calculada estadísticamente, que causa la muerte al 50% de los animales de una misma especie que la reciben. Por ello debe destacarse que sólo es un valor estadístico, y no una constante de la sustancia, como pueden ser las características físico-químicas. Únicamente es útil para comparar y clasificar las sustancias con arreglo a su toxicidad letal. Pero también debe tenerse en cuenta que la *letalidad* es tan sólo uno de los distintos índices que pueden usarse para valorar la toxicidad; no es más que un efecto cualitativo, con carácter de "todo o nada".

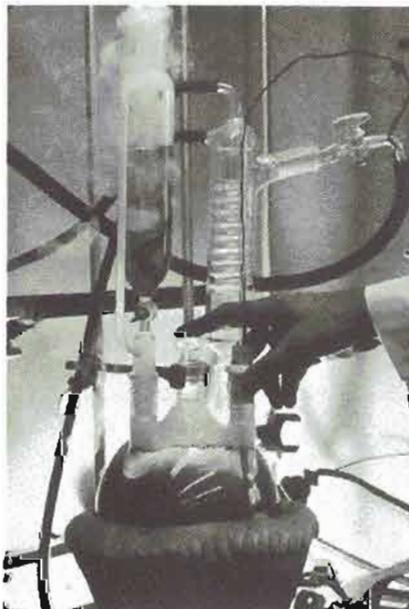
Por el contrario hay otros muchos parámetros tóxicos susceptibles de cuantificar, como son las modificaciones del peso corporal o de los distintos órganos, las actividades enzimáticas, las concentraciones de electrolitos y otros constituyentes de los fluidos orgánicos, así como alteraciones de otras constantes o características anatómicas o funcionales, sean bioquímicas, neurológicas, inmunológicas, de comportamiento, etc. Su estudio nos puede conducir a la fijación de la dosis tóxica o dosis efectiva media (DT-50, DE-50) que es la dosis que produce el efecto estudiado en el 50% de los individuos.

Además, la mayor o menor rapidez en la presentación de la muerte, así como la pendiente de las curvas dosis-efecto y dosis-respuesta, indican mejor la peligrosidad de la sustancia que la DL-50. Cuando la pendiente es

pequeña, se deduce que hay un gran margen de seguridad, porque se requieren grandes aumentos de la dosis para producir pequeños incrementos del efecto, mientras que una gran pendiente es indicativa de una enérgica acción.

A la aludida "devaluación" de la DL-50 ha contribuido el conocimiento epidemiológico de los trastornos producidos en humanos por el uso continuado de sustancias empleadas como medicamentos, plaguicidas, o aditivos alimentarios, que tienen escasa toxicidad aguda, pero que han demostrado poseer importantes efectos nocivos a lo largo del tiempo.

A pesar de ello, la determinación de la DL-50 sigue siendo un paso previo en los estudios de toxicidad, pues proporciona el dato básico para iniciar los ensayos subcrónicos y crónicos. Pero para que los valores de la DL-50 sean más reales, hay que aplicar en su determinación todas las condiciones exigidas por la cronotoxicología y lo que hemos denominado como cosmotoxicología. Así, en cuanto a la primera, los animales deben haber sido sometidos a sincronización de sus biorritmos, mediante alternancias idénticas de períodos de luz y oscuridad, ruidos, etcétera; la administración del producto a ensayar se realizará siempre a la misma hora, y en el informe final debe consignarse en qué fase lunar y estación del año fue realizada la experiencia, porque como se sabe, en otra estación distinta las DL-50 resultarán diferentes; igualmente serán tenidas en cuenta las fluctuaciones rítmicas de los parámetros evaluados. Por otra



parte, se evitará experimentar o se desecharán los resultados obtenidos en días tormentosos o coincidentes con manchas solares, terremotos aunque sean lejanos, etc.; todo lo cual según se está viendo modifica grandemente el efecto de los xenobióticos en los individuos (Repetto y Sanz, 1985).

En líneas generales podemos considerar que los estudios experimentales de toxicidad tienen por objeto al menos:

- a) Definir la capacidad tóxica (toxicidad intrínseca) de cada sustancia.
- b) Conocer el peligro a su exposición en forma aguda, subcrónica o crónica.
- c) Conocer los *órganos diana* y los mecanismos de acción fisiopatológica.
- d) Investigar la susceptibilidad variable de las distintas especies.

Tradicionalmente estos ensayos se han efectuado sobre animales, pero en los últimos años se aplican también numerosos procedimientos "in vitro".

En la actualidad, la CEE tiene en estudio un "programa de acción en toxicología para la protección de la salud", entre cuyas acciones específicas podemos destacar las siguientes:

1. Elucidar las relaciones entre las desviaciones producidas por los tóxicos en las funciones orgánicas y sus consecuencias sobre la salud. Se dedica especial atención al sistema nervioso y neuroendocrino, sistema inmunitario y función renal.

2. Desarrollar nuevos ensayos "in vitro" y con órganos aislados para la determinación de la toxicidad, que se asemejen a las pruebas "in vivo", de forma que pueda reducirse el número

*La peligrosidad de una sustancia depende de sus características fisicoquímicas de las que se derivarán las posibilidades tóxico-cinéticas; su potencialidad tóxica o toxicidad inherente, y la probabilidad de que sea absorbida.*

de ensayos animales y se evite la duplicación de esfuerzos.

3. Evaluar los procedimientos utilizados en la extrapolación de los datos animales a los humanos, estableciendo sus límites, y examinando la necesidad de nuevos procedimientos. Para ello considera que el mejor sistema de evaluación es el estudio comparativo de los datos de la experimentación con la epidemiología humana, siempre que esto sea posible. Sólo así podrán calcularse los mejores *factores de seguridad*.

4. El conocimiento precoz del metabolismo y de los mecanismos responsables de la acción tóxica en los *órganos diana* permitirá establecer los modelos animales más convenientes, y también ayudará a diseñar mejor las medidas preventivas y terapéuticas. Se dedicará especial atención al desarrollo intrauterino y neonatal (por posible alteración de la biotransformación de los xenobióticos debido a diferencias en los equipos enzimáticos) y también a los ancianos (por incremento de sensibilidad de las neuronas), y dificultades metabólicas y de excreción.

5. Dado que las inmunodeficiencias pueden agravar los efectos tóxicos y que, a su vez, el sistema inmunitario puede sufrir sutiles modificaciones en la exposición crónica a los tóxicos, deben investigarse en los animales los trastornos de esta función, aunque por el mayor desarrollo del sistema inmunitario humano, la información obtenida por los animales es sólo de relativo interés.

Aunque el programa que comentamos no está orientado hacia la investigación, finaliza recomendando la necesidad de un Programa de Investigación Toxicológica, promovido por la propia CEE.

En forma esquemática, resumimos a continuación los principales estudios necesarios para la evaluación de la toxicidad de una sustancia:

Toxicidad aguda. Determinación de:  
Dosis tóxica (que produce algún efecto nocivo) (DT)  
Dosis letal media (DL-50)

Capacidad irritativa primaria  
Dérmica, oftálmica e inhalatoria

Capacidad sensibilizante

Toxicidad subcrónica

Toxicidad crónica

Toxicidad sobre la reproducción. Efectos sobre:

- Fertilidad
- Desarrollo fetal
- Períodos pre y posnatal
- Lactación
- Sucesivas generaciones

Carcinogenicidad

Mutagenicidad

Acción sobre el comportamiento

Toxicoadicción

De acuerdo con su toxicidad, preferentemente oral, se han clasificado las sustancias atendiendo únicamente a la DL-50, en los siguientes grupos:

Clase 1: sumamente peligrosa	DL-50	1 mg/Kg
Clase 2: muy peligrosa	DL-50	50 mg/Kg
Clase 3: moderadamente peligrosa	DL-50	500 mg/Kg
Clase 4: ligeramente peligrosa	DL-50	5.000 mg/Kg

Recientemente en la URSS se ha propuesto agrupar las sustancias en esas clases considerando los dos coeficientes siguientes:

a) *Coefficiente de acción aguda*, obtenido como cociente entre la DL-50 y la dosis umbral que causa modificaciones en los indicadores biológicos (BLV) rebasando las reacciones fisiológicas de adaptación.

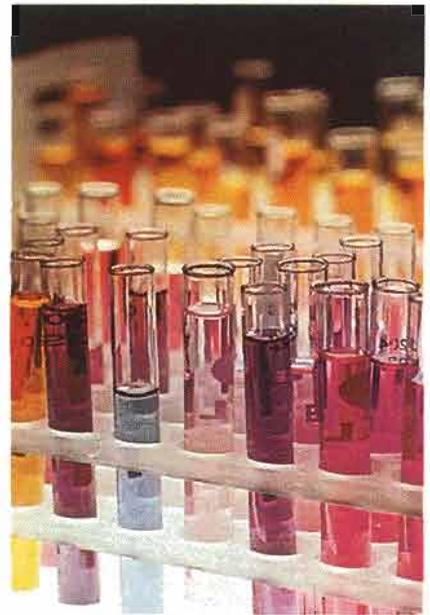
$$\text{coeficiente de acción aguda} = \frac{\text{DL-50}}{\text{D.U.}}$$

b) *Coefficiente de acción crónica*, relación entre la anteriormente citada dosis umbral para una sola exposición y la dosis umbral que causa efectos nocivos como consecuencia de una absorción crónica.

$$\text{coeficiente de acción crónica} = \frac{\text{D.U.}}{\text{D.U. crón.}}$$

Conforme a estos coeficientes las clases anteriores corresponderán a:

Clase de sustancia tóxica	Coeficiente de acción	
	aguda	crónica
Clase 1: sumamente peligrosa	< 6	> 10
Clase 2: muy peligrosa	< 18	> 5
Clase 3: moderadamente peligrosa	< 50	> 2,5
Clase 4: ligeramente peligrosa	> 50	< 2,5



### Normativas

Los métodos o códigos para la determinación de las propiedades tóxicas de las sustancias tienen por objeto proporcionar unas normas suficientemente concretas para realizar los diferentes ensayos, de forma que los datos obtenidos permitan clasificar las sustancias en relación con los posibles riesgos que puedan suponer para el hombre.

La experiencia actual ha demostrado que los ensayos de laboratorio, bien sea sobre animales o utilizando otros sistemas biológicos, suelen proporcionar una fidedigna indicación de la toxicidad de la sustancia para el hombre aunque en éste puedan presentarse, por diversas causas, efectos totalmente inesperados, limitación que no debe jamás perderse de vista.

Como veíamos antes, casi todos los países y los más importantes organismos internacionales han establecido directrices para los estudios de toxicidad y registro o autorización para

*Tanto las legislaciones nacionales como las promulgadas por organismos supranacionales contemplan separadamente las determinaciones o valoración de toxicidad de las sustancias químicas según sea la aplicación a que se destinan: sustancias de aplicación industrial, aditivos alimentarios, medicamentos o plaguicidas.*

comercializar las diferentes clases de productos químicos. Aparte de la legislación española, a nosotros nos interesan como referencia las de la OMS, la OCDE, la CEE y entre las diversas norteamericanas las de la FDA (tabla I).

A excepción de Suiza, donde la primera normativa se dictó en 1969 para controlar el comercio de sustancias químicas en general, casi todos los países comenzaron legislando sobre medicamentos.

La Food and Drug Administration (FDA) del Gobierno USA, fue fundada en 1907 por el químico Harvey Wiley, que era jefe técnico del Departamento de Agricultura, con el objetivo de velar por la pureza y calidad de los alimentos. En 1938, y con motivo de la muerte de 107 personas que tomaron una sulfamida como tratamiento de una faringitis estreptocócica, se promulgó la ley conocida como "Food, Drug and Cosmetic Act" que confería a la FDA el control sobre alimentos, medicamentos y cosméticos. Posteriormente, se facultó a la FDA para retirar del mercado cualquier producto cuya efectividad e inocuidad no estuvieran suficientemente comprobadas.

En Alemania, aunque existen antecedentes, las normas para el ensayo de medicamentos no se promulgaron hasta 1971, por retrasos debidos a las guerras.

Se critica a los sistemas rígidos de control de medicamentos con los argumentos de que incrementan grandemente los costos y retrasan el empleo terapéutico del producto. Como ejemplo de esto último se esgrime que

en USA se tardó cuatro años en autorizar el empleo del antianginoso propamolol y más de seis para el antialérgico cromoglicato sódico, etc.

Realmente, se nos presenta así un grave dilema en el que juegan, por un lado aspectos económicos y de rápido aprovechamiento de los nuevos productos y por otro, la protección general de la humanidad ante posibles trastornos tóxicos para los usuarios e incluso para sus descendientes (caso de la talidomida, etc.).

Idéntica filosofía es aplicable a los productos plaguicidas cuya legislación se desarrolló con posterioridad.

Consideremos seguidamente los más importantes problemas que aún se plantean en relación con las determinaciones de toxicidad de medicamentos, plaguicidas y productos industriales.

plearse. Aunque en general se requiere el uso de dos especies de mamíferos, Canadá demanda el ensayo sobre tres, una de las cuales no será roedor; Japón admite una sola especie cuando se trata de homologar un producto ya comercializado en el extranjero (nótese que no se acepta este hecho sin mayor investigación en laboratorios del propio país).

En cuanto a la edad de los animales, Canadá requiere que se determine sistemáticamente las DL-50 en individuos jóvenes para compararlas con las correspondientes a los adultos, e incluso en Suecia se especifica el uso de animales recién nacidos para el ensayo de productos que puedan tener una incidencia en el hombre en el período perinatal.

La mayoría de los países exigen que se utilicen animales de ambos sexos y

Tabla I  
LEGISLACIONES SOBRE TOXICIDAD

PAIS	SUSTANCIA	FECHA
España	Medicamentos	1973
	Plaguicidas	1984
	En general	—
USA	FDA	1938
	En general	1976
Suiza	En general	1969
	Medicamentos	1972
Francia	Medicamentos	1976
	En general	1977
OMS	Medicamentos	1975
OCDE	Directrices generales	1977
	Métodos generales	1981
CEE	Medicamentos	1975
	En general	1976
República Federal Alemana	Medicamentos	1971
	En general	1980
Gran Bretaña	Medicamentos	1968
	En general	1982

### Medicamentos

Constituye el tema de mayor interés para los legisladores sanitarios y en algunos países se exigen estudios realizados en laboratorios nacionales, con arreglo a normas propias o en su defecto internacionales.

De un estudio comparativo de legislaciones de diferentes países de ensayos de medicamentos, podemos destacar las exigencias acerca de las especies animales que deben em-

que se indique el número, aunque la legislación española (Decreto del 16 de mayo de 1973) no especifica esto último. Los resultados deben presentarse con límites de confianza del 95 por 100, y Holanda requiere el cálculo de líneas de regresión.

Lamentablemente se olvidan a veces las estrictas condiciones que deben cumplir tanto los animales de experimentación en cuanto procedencia y salud, como todos los detalles de habitáculos, medio ambiente, alimen-

tación, etc., que hay que observar rigurosamente para que los resultados de los estudios posean fiabilidad, todas cuyas circunstancias deben consignarse en el informe, indicando también si se trata de animales normales o exentos de gérmenes patógenos (EOPS o SPF).

Pudiera decirse que estos requisitos son los que más frecuentemente se incumplen de entre todos los que incluyen los códigos de "buena práctica de laboratorio".

Estos códigos, que especifican las características técnicas de las instalaciones, material, personal, archivos, formas de elaborar los protocolos, emitir los informes, etc., deben cumplirse estrictamente si se quiere que el laboratorio pueda ser conceptuado como homologable y sea reconocida su competencia experimental.

En lo que se refiere a estudios con dosis repetidas, se suelen exigir ensayos subcrónicos y crónicos.

a) Las pruebas subcrónicas suponen el tratamiento de los animales durante 2-4 semanas para la CEE, 3-4 semanas para España y un mes o más para Japón, es decir un mes como promedio.

b) Las pruebas crónicas, cuya duración debe estar en función de la prevista utilización terapéutica del producto, alcanzan al menos 3-6 meses. Este estudio se efectúa para medicamentos que se utilizan en dosis únicas (CEE), o como sustancias de contraste (Japón), de empleo terapéutico inferior a una semana (España), o que ya se vengán utilizando en terapéutica humana más de tres años (España).

Para los productos muy poco tóxicos, Canadá establece una *prueba de tolerancia*, ordinariamente en perro, con administración diaria con aumento semanal de dosis.

Frecuentemente se consignan las razas de los animales que deben emplearse; así para Canadá el perro debe ser Beagle, para Suecia y Gran Bretaña se deben evitar los animales albinos en el ensayo de sustancias con afinidad por la melanina, etc.

El número de animales por lote o dosis y sexo suele ser de 10 roedores y 3 no roedores para productos de empleo no muy dilatado y 20 y 5, respectivamente, para medicamentos de uso prolongado.

La menor dosis empleada debe permitir establecer el margen de tolerancia (CEE), deba corresponder a la dosis terapéutica del producto (Gran Bre-

taña), no debe producir síntomas de intoxicación (Canadá), aunque puede provocar algún efecto biológico observable (Suecia).

Pero la dosis más elevada debe originar efectos nocivos (CEE), debe matar al menos un animal en un mes (Japón) o debe ser subletal en la mayoría de los animales (Suecia).

La Federación Internacional de Asociaciones de Fabricantes Farmacéuticos (IFPMA) ha publicado en 1980 un magnífico estudio comparativo de los requerimientos normativos para el registro de medicamentos en 57 países y organismos internacionales. En él se encuentra una valiosa información pormenorizada sobre esta materia.

### Plaguicidas

Si los medicamentos suponen un problema toxicológico importante, no lo constituyen menor los plaguicidas, cuyo empleo crece continuamente como forma eficaz de defender e incrementar las cosechas y hacer frente a los vectores de numerosas enfermedades.

Como los medicamentos, los plaguicidas exigen de los fabricantes un gran esfuerzo e inversión para descubrirlos, sintetizarlos, probar sus cualidades y comercializarlos después de valorar su toxicidad. Han de poseer ésta en grado significativo, ya que si están destinados a destruir especies o eslabones tróficos intermedios de las cadenas vegetal y/o animal, lógicamente a las dosis oportunas también serán tóxicos para las restantes especies.

Según un estudio sobre la industria de los plaguicidas en USA realizado por Ernst & Ernst Trade Association (Green, 1983), en 1970 de 7.430 productos ensayados totalmente, tan sólo uno fue comercializado con un coste promedio de 5,5 millones de dólares (tabla 2) cantidad en la que se incluyen los gastos ocasionados por los 7.429 productos restantes que se desestiman; también es preciso que transcurran 6 años y medio desde el descubrimiento de un nuevo producto hasta que se autorice su registro. Estas cifras aumentan progresivamente cada año y ya en 1972 se requería el estudio de 10.000 nuevos productos para comercializar uno sólo, con un costo global de 10 millones de dólares, cantidad que hoy se aproxima a los 20 millones.

Las razones de estos incrementos están en que cada vez es más difícil

*Las calificaciones de toxicidad no pueden limitarse a la capacidad de producir intoxicaciones agudas, sino que actualmente suelen ser objeto de mayor atención por parte de los legisladores la valoración de la capacidad para inducir trastornos tóxicos a largo plazo.*

*Los perros de raza "Beagle" son los preferidos en las investigaciones farmacológicas y toxicológicas.*

encontrar productos de éxito final y por otra parte, en la creciente amplitud y extensión de los estudios sobre toxicidad, impacto ambiental y características de los residuos, que exigen las autoridades encargadas de la aprobación y registro oficial, como vemos en la tabla 2.

Para la inscripción en el Registro Oficial de Productos y Material Fitosanitario de España, se han de cumplir los requisitos previstos en la "Reglamentación Técnico-Sanitaria para la fabricación, comercialización y utilización de plaguicidas" aprobada por Real Decreto 3349/1983, "B.O.E." de 24 de enero de 1984. En ella se exige (tabla 4):

— DL-50 oral en rata, para plaguicidas sólidos o líquidos.

— CL-50 (concentración letal media) expresada en mg de producto por litro de aire, determinada en rata por vía inhalatoria durante 4 horas, para los plaguicidas gaseosos o los que se comercialicen en forma de gas licuado y fumigantes o aerosoles.

La clasificación se corresponde a los efectos de carácter agudo, que puede presentar para el hombre, tras la absorción por cualquier vía, con la siguiente gradación de riesgos:

a) Sin riesgos apreciables: *baja peligrosidad.*

b) Riesgos de gravedad limitada: *nocivos.*

c) Riesgos graves, incluso muerte: *tóxicos.*

d) Riesgos extremadamente graves, incluso muerte: *muy tóxicos.*



También contempla la capacidad de producir irritación primaria en piel, ojos o mucosas. Aunque esta normativa considera a todas las clases de plaguicidas, cualquiera que sea su aplicación (agrícola, ambiental, alimentaria, doméstica, etc.), ha olvidado la clasificación de toxicidad para las especies acuáticas, que la anterior normativa de 1973 establecía como CL-50 en mg/l o en ppm, con ensayos en 24, 48 y 96 horas, y la concentración umbral admisible, TLm en ppm.

## PRODUCTOS DE USO INDUSTRIAL

El desarrollo creciente de la Medicina del Trabajo y de la Toxicología Ocupacional conduce a una legislación cada vez más exigente para preservar en lo posible de riesgos a quienes han de manipular o están expuestos al contacto con productos químicos por razones laborales. Por esta razón han ido apareciendo las M.C.A. (máximas concentraciones ambientales permisibles, que no deben ser superadas en ningún momento) los TLV (valores umbrales límites, con sus variantes: de *techo* que no puede ser sobrepasada, de valores permisibles *promedios* para 8 horas/día, 40 horas en la semana, o la permisible *para períodos cortos* de exposición), los BLV o BTL (valores límites biológicos), etc.

Pero el establecimiento de todos estos valores o índices debe realizarse sobre la base de una experimentación con animales seguida de observación en el hombre, mediante estudios epidemiológicos en la población laboral,

1950	1960	1970
<b>Toxicología</b>		
Toxicidad aguda Alimentación de ratas (30-90 días)	Toxicidad aguda Alimentación de ratas (90 días) Alimentación de perros (90 días) Alimentación de ratas (2 años) Alimentación de perros (1 año)	Toxicidad aguda Alimentación de ratas (90 días) Alimentación de perros (90 días) Alimentación de ratas (2 años) Alimentación de perros (2 años) Reproducción de ratas (3 generaciones) Teratogénesis (roedores) Toxicidad (peces) Toxicidad (moluscos) Toxicidad (pájaros)
<b>Metabolismo</b>		
Ninguno	En ratas	En ratas y perros En plantas
<b>Residuos</b>		
Cosechas comestibles (1 ppm)	Cosechas comestibles (0,1 ppm) Carne (0,1 ppm) Leche (0,1 ppm)	Cosechas comestibles (0,01 ppm) Carne (0,1 ppm) Leche (0,005 ppm)
<b>Ecología</b>		
Ninguno	Ninguno	Estabilidad y movilidad medioambientales

que permita conocer la incidencia del compuesto sobre la piel, ojos y mucosas, sobre las vías respiratorias, sobre los diferentes sistemas (nervioso, digestivo, urinarios, cardiovascular, etc.) después de la absorción por vía inhalatoria, cutánea u oral.

La evolución de los conocimientos toxicológicos y la mentalización del legislador ha hecho que valores límites antes permitidos son frecuentemente variados para adaptarlos a los efectos fisiopatológicos más reales, a la par que se tiene en cuenta el incremento del riesgo por la incidencia concomitante, que potencia la toxicidad del producto en cuestión, de ruidos, polvos u otros contaminantes ambientales, medicaciones, hábitos higiénicos o alimentarios del sujeto, etcétera (OMS, 1981).

## EXTRAPOLACION DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES AL HOMBRE

Un importante problema final que se presenta al experimentador, es la fiabilidad de la extrapolación al género humano de los datos de toxicidad de una sustancia obtenidos en la experimentación animal. Como dijo Bernard

L. Oser "el hombre no es una rata grande" y aunque la elección de una especie animal para realizar con ella un estudio toxicológico, debiera basarse en la sensibilidad para el agente tóxico o en la similitud del metabolismo de la especie elegida y los humanos, la realidad es que, por razones prácticas, se suele trabajar con ratas. No se tiene en cuenta que la rata presenta grandes diferencias fisiológicas y bioquímicas con los humanos, y no sólo desde el punto de vista cuantitativo, sino también cualitativo. Las ratas no tienen vesícula biliar y su páncreas es difuso; el ciclo estral es de 4 días, con las siguientes alternancias endocrinas y enzimáticas; la estructura y función de su placenta, así como la fisiología de la reproducción es muy diferente de la humana; no poseen reflejo emético, no dependen del ácido ascórbico de la dieta, etcétera, y en conjunto se considera a la rata como un modelo único en el metabolismo de los xenobióticos.

Sería ideal disponer de un factor de conversión que permitiese aplicar a una especie los resultados de la experimentación toxicológica obtenidos en otra especie, pero como desgraciadamente no existe este factor, el investigador tiene que conformarse con abordajes metodológicos, uno el basado

**Tabla 4**  
**CLASIFICACION TOXICOLOGICA DE PLAGUICIDAS**  
(Real Decreto 3349/1983)

TOXICIDAD CATEGORIA	DL-50 ORAL mg/Kg		DL-50 CUTANEA mg/Kg		CL-50 INHAL. <sup>d</sup> 4 h mg/litro
	Sólidos <sup>a</sup>	Líquidos <sup>b</sup>	Sólidos <sup>a</sup>	Líquidos <sup>b</sup>	Gases o aerosoles <sup>c</sup>
Baja	500	2.000	1.000	4.000	20
Nociva	500	2.000	1.000	4.000	20
Tóxica	50	200	100	400	2
Muy tóxica	5	25	10	50	0,5

*a:* se exceptúan los cebos y las tabletas.  
*b:* incluye cebos y tabletas.

*c:* y polvos de diámetro 50  $\mu$ .

*d:* en rata o conejo; en los demás casos se refiere a rata.

en el llamado factor de seguridad y otro mediante modelos matemáticos.

### El factor de seguridad

Este concepto fue introducido en los años cincuenta para interpretar los datos de la experimentación animal en la búsqueda de niveles de exposición que se pudieran considerar aceptables en la absorción muy dilatada de sustancias como los aditivos alimentarios. Con este objetivo se estableció la "ingesta diaria admisible" (IDA) de los diferentes compuestos.

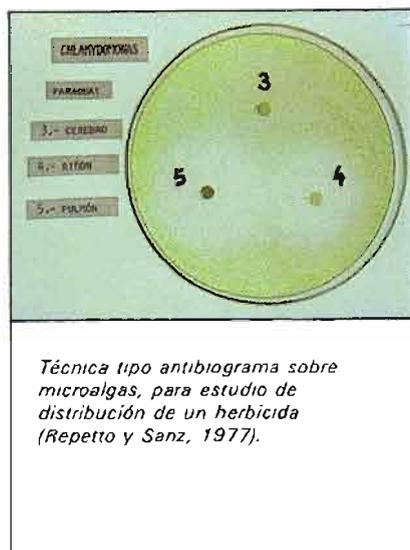
Para su cálculo hay que determinar en primer lugar el "nivel sin efecto observable" (NISEO), inicialmente llamado "nivel sin efecto", al que se le condicionó el nombre prudentemente.

El NISEO se define como "la dosis máxima de sustancia que puede ser absorbida a lo largo de un determinado período de tiempo, sin que los animales de experimentación presenten diferencias con los grupos control, ni muestren los efectos que experimentarían si recibiesen dosis más elevadas de este producto (DE). Dicho efecto no precisa ser tóxico, ni siquiera adverso".

Se considera que para la determinación del NISEO puede ser suficiente una exposición subcrónica si en ese tiempo no se aprecian efectos tóxicos como: modificación del peso corporal o de la toma de alimentos, los hábitos alimentarios, así como cualquier patología funcional o anatómica (incluida la variación ponderal) del hígado o de la citología y química hemática y urinaria.

Para que estos estudios sean válidos se exige que  $p < 0,05$ ; es decir que de 100 veces que se realice una determinación sólo en 5 ocasiones es permisible que la diferencia sea estadísticamente significativa.

Para calcular el IDA se divide el valor del NISEO por un factor que refleje la



incertidumbre inherente al proceso de extrapolación.

Tradicionalmente en el cálculo de los IDA se ha aceptado un valor 100 para el factor de seguridad, cifra que a su vez es combinación de otros dos factores:

— Un factor de 10 que hipotéticamente refleje una mayor sensibilidad del hombre a los efectos producidos en los animales.

— Otro segundo factor de 10 que pretenda tener en cuenta la diferente sensibilidad en la heterogénea población humana.

Aunque muchos autores no admiten estos factores de seguridad o de incertidumbre, porque realmente no tienen auténticas bases biológicas o experimentales, se han aceptado varios tipos, como los que citamos a continuación, propuestos en 1977 por el Drinking Water Committee de la National Academy of Science de USA.

1. Cuando se disponga de datos válidos sobre exposición crónica en

humanos, se puede usar el factor 10, que se correspondería con el segundo epígrafe anterior.

2. Cuando no se disponga de todos los datos en humanos, pero sí en animales de una o más especies se emplearía un factor de 100.

3. Cuando los datos humanos o animales sean insuficientes será necesario aplicar un factor de 1.000.

Quizá este arduo problema pueda resolverse de forma estadística cuando se disponga de un archivo informatizado que ha comenzado a preparar el RIPQPT con todos los datos que puedan recogerse sobre la experimentación en animales y efectos en el hombre de las diferentes sustancias químicas.

Ciertamente la afortunada interpretación de los datos experimentales es un problema difícil que sólo puede abordarse como aprovechamiento del mayor número posible de datos, aunque el propio RIPQPT teme la posibilidad de que su ordenador se bloquee por la excesiva recepción de datos.

### REALIZACION PRACTICA DE ESTOS ESTUDIOS

No es fácil encontrar, ni siquiera en los países avanzados, un centro que reúna todos los laboratorios precisos para cumplimentar los estudios fisicoquímicos y biológicos requeridos. Prueba de ello son las facilidades e incluso las ayudas económicas que conceden algunos gobiernos.

Tampoco es fácil improvisar centros de este tipo; no se resuelve la cuestión construyendo un edificio, adquiriendo todo el material necesario y contratando personal; son típicos los fracasos de estos laboratorios, porque la competencia experimental o "buena práctica" es algo que requiere tiempo.

Sobre estos problemas tenemos buena experiencia, porque después de más de veinte años de realizar estos estudios en nuestro instituto, continuamente sentimos la necesidad de mejorar los protocolos de trabajo y de modificar las instalaciones, tanto animales como las salas de experimentación; podríamos decir que, por el momento, el nuevo pabellón de dos plantas destinado a experimentación animal, de que pronto dispondremos, es el fruto de nuestro propio aprendizaje permanente.

Nosotros tenemos propuesto (Repetto, 1983) que la Administración debería elaborar un inventario nacional de centros capacitados para realizar competentemente los estudios de valoración de toxicidad. Dicho inventario debería considerar separadamente las instituciones capaces de realizar los diferentes tipos de estudios, distinguiéndolos en:

1. Centros capacitados para realizar estudios de toxicología general (toxicocinética, dosis de toxicidad aguda o crónica, empleo de varias especies animales, toxicodinámica, bioquímica e histopatología aplicada, etc.).

2. Centros capacitados para desarrollar tan sólo alguno de los temas considerados en el 1.

3. Centros especializados, con preparación para la realización de estudios concretos o específicos de embriotoxicidad, mutagenicidad, cancerogénesis, manejo de especies animales poco comunes.

Entendemos que de esta manera tanto la propia Administración como las firmas privadas podrán saber a quiénes dirigirse, dentro de España, sin tener que recurrir a centros extranjeros, para obtener los estudios de calificación de toxicidad con menores inversiones económicas y de tiempo, y mejor ajuste a las legislaciones internacionales. ■

---

#### BIBLIOGRAFIA

1. BALLS, M.; RIDELL, R. and WORDEN, A.: "Animals and alternatives in toxicity testing". Academic Press, New York, 1983.
2. CEE. Journal Officiel des Communautés. 9 juin, 1975.
3. GREEN, M.: "Los plaguicidas. Beneficios y riesgos". Alimentaria, 145: 49. 1983.
4. Health and Safety Commission's Advisory Committee on Toxic Substances. "Principles of a good laboratory practice". London, 1982.
5. HAYES, A. W.: "Principles and Methods of Toxicology". Raven Press, New York, 1982.
6. International Federation of Pharmaceutical Manufacturers Association (IFPMA). "Legal and Practical Requirements for the Registration of Drugs (Medicinal Products) for Human Use". London, 1980.

7. MACDONALD, C. M.: "Toxicity testing requirements in the U.K.". Mth. and Find. Exptl. Clin. Pharmacol. 1: 2, III, 1979.
8. OCDE. Lignes directrices pour les essais de produits chimiques. Paris, 1981.
9. OMS. Efectos sobre la salud de las exposiciones combinadas en el medio de trabajo. Inf. Tc. 662. Ginebra, 1981.
10. OMS. RIPOPT Bol. 5: 2, 1982.
11. PAGET, G. E. and THOMSON, R.: "Standard Operating Procedures in Toxicology". MTP Press, Lancaster, 1979.
12. REPETTO, M.: "La clasificación de toxicidad de las sustancias químicas". Química e Industria. 30, 5: 349-352, 1984.
13. REPETTO, M.: "Determinación experimental de la toxicidad". Revista de Toxicología, 1: 2: 77-96, 1984.
14. REPETTO, M. y SANZ, P.: "Crono y cosmotoxicología". Sandorama (en prensa).