

*Este informe recoge la opinión colectiva de un grupo internacional de especialistas y no representa necesariamente el criterio ni la política de la Organización Mundial de la Salud.*

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD  
SERIE DE INFORMES TECNICOS

Nº 144

**METODOS DE ENSAYO  
TOXICOLOGICO  
DE LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS**

**Segundo Informe  
del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos  
en Aditivos Alimentarios**

	Página
Introducción . . . . .	3
1. Consideraciones generales. . . . .	4
2. Identificación química y física . . . . .	7
3. Estudios en animales. . . . .	8
4. Valor e interpretación de los ensayos y estudio de los márgenes de seguridad . . . . .	15
5. Recomendaciones a la FAO y a la OMS . . . . .	20
6. Resumen y conclusiones . . . . .	20
Referencias bibliográficas . . . . .	21

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

PALAIS DES NATIONS

GINEBRA

1958

COMITE MIXTO FAO/OMS DE EXPERTOS EN ADITIVOS  
ALIMENTARIOS

Ginebra, 17-24 de junio de 1957

*Miembros :*

Profesor E. Abramson, Director del Instituto Nacional de Sanidad, Tomte-  
boda, Suecia

Sr. M. G. Allmark, Head, Section of Pharmacology and Toxicology, Food  
and Drug Directorate, Department of National Health and Welfare,  
Ottawa, Canadá

Dr. J. M. Barnes, Toxicology Research Unit, Medical Research Council  
Laboratories, Carshalton, Surrey, Inglaterra

Dr. F. A. Denz, Toxicology Research Department, Medical School, University  
of Otago, Dunedin, Nueva Zelanda

Profesor A. C. Frazer, Department of Medical Biochemistry and Pharma-  
cology, The Medical School, University of Birmingham, Birmingham,  
Inglaterra

Sr. H. van Genderen, Jefe del Departamento de Farmacología y Endo-  
crinología, Instituto Nacional de Salud Pública, Utrecht, Países Bajos

Dr. B. Mukerji, Director, Central Drug Research Institute (Government of  
India), Lucknow, India

Profesor R. Blackwell Smith, jr, President, Medical College of Virginia,  
Richmond, Va., Estados Unidos de América (*Presidente*)

Dr. H. C. Spencer, in charge Food Research, Biochemical Research Depart-  
ment, The Dow Chemical Company, Midland, Mich., Estados Unidos de  
América

Profesor R. Truhaut, Laboratoire de Toxicologie, Faculté de Pharmacie  
de l'Université de Paris, Paris, Francia (*Vicepresidente*)

*Secretaría :*

Dr. R. A. Chapman, Químico especialista en aditivos alimentarios, Sección  
de Métodos de Laboratorio de Salud Pública, OMS (*Cosecretario*)

Dr. A. G. van Veen, Jefe del Departamento de Elaboración y Preparación  
de Alimentos, Dirección de Nutrición, FAO (*Cosecretario*)

# METODOS DE ENSAYO TOXICOLOGICO DE LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS

**Segundo Informe  
del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos  
en Aditivos Alimentarios \***

## INTRODUCCION

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios se reunió en Ginebra, del 17 al 24 de junio de 1957. La reunión fue declarada abierta por el Director General Adjunto de la Organización Mundial de la Salud, Dr. P. Dorolle, quien habló también en nombre del Director General de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. El Profesor R. Blackwell Smith, jr, y el Profesor R. Truhaut fueron elegidos por unanimidad Presidente y Vicepresidente, respectivamente, del Comité. Este estaba compuesto por diez miembros, de los cuales cinco fueron invitados por la FAO y cinco por la OMS. Como secretarios técnicos actuaron funcionarios de la FAO y de la OMS.

### Historia

En 1954, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Nutrición, en su cuarta reunión <sup>a</sup> estudió los problemas relacionados con el empleo de los aditivos alimentarios y recomendó que la FAO y la OMS convocasen una conferencia especial para el estudio de esta cuestión. El Comité Mixto sugirió también que esta conferencia podría examinar la conveniencia de

---

\* En el curso de su 21ª reunión, el Consejo Ejecutivo adoptó la siguiente resolución :  
El Consejo Ejecutivo

1. TOMA NOTA del segundo informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios ;
2. DA LAS GRACIAS a los miembros del Comité por su labor ;
3. DA LAS GRACIAS a la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación por la colaboración que ha prestado ;
4. AUTORIZA la publicación del informe ; y
5. EXPRESA el deseo de que, en cooperación con la FAO, se tomen las disposiciones oportunas para dar cumplimiento a las recomendaciones del informe.

(Resolución EB21.R5, *Act. of. Org. mund. Salud*, 1958, 83, 6)

<sup>a</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1955, 97 ; *Reuniones de la FAO sobre Nutrición, Serie de Informes*, 1955, N° 9

reunir un comité de expertos para estudiar, entre otras cosas, los criterios que se deben seguir en la determinación de la toxicidad de los aditivos alimentarios. De conformidad con estas recomendaciones, en septiembre de 1955 se celebró en Ginebra una Conferencia Mixta FAO/OMS sobre Aditivos Alimentarios a la que acudieron delegados de varios países así como también representantes de organizaciones que trabajan en este campo.<sup>a</sup>

Esta conferencia, que tenía un carácter exploratorio, prestó especial atención al trabajo que la FAO y la OMS podrían emprender provechosamente. Recomendó que deberían reunirse comités o grupos de expertos con el fin de enunciar los principios generales que deben regir el empleo de los aditivos alimentarios y para formular « métodos uniformes y apropiados para apreciar la inocuidad de los aditivos alimentarios ». El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios se reunió en Roma en diciembre de 1956 para sentar los principios generales.<sup>b</sup> El Comité recomendó que los procedimientos para el ensayo toxicológico fuesen objeto de un examen ulterior. El presente informe es resultado de estas recomendaciones.

### Funciones

En sus cartas de invitación los Directores Generales de la FAO y de la OMS indicaban que, de acuerdo con las recomendaciones mencionadas en el párrafo precedente, el Comité debería « estudiar los procedimientos para el ensayo toxicológico de los aditivos alimentarios añadidos deliberadamente ». En su mayor parte, el Comité limitó sus discusiones a las « materias no nutritivas que se incorporan intencionadamente a los alimentos, por lo general en pequeña cantidad, para mejorar su aspecto, su sabor, su consistencia o sus propiedades de conservación », según se propuso en 1954 por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Nutrición.<sup>c</sup>

## 1. CONSIDERACIONES GENERALES

Este informe está destinado a dar a todos aquéllos dedicados a estas cuestiones, ya sea con carácter científico o ya con carácter administrativo,

<sup>a</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1956, 107; *Reuniones de la FAO sobre Nutrición, Serie de Informes*, 1956, N° 11

<sup>b</sup> El presente informe debe leerse conjuntamente con el primer informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (*Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1957, 129; *Reuniones de la FAO sobre Nutrición, Serie de Informes*, 1957, N° 15).

<sup>c</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1955, 97, 33; *Reuniones de la FAO sobre Nutrición, Serie de Informes*, 1955, N° 9, p. 33

una idea general del tipo de datos de que se debe disponer en relación con todo aditivo antes de que su empleo en los productos alimenticios sea autorizado oficialmente. Sobre este tema existen diversas publicaciones.<sup>1, 4, 5, 7, 10, 11, 14</sup>

A los hombres de ciencia dedicados a estas cuestiones corresponde indicar lo que debe hacerse para proporcionar pruebas que sirvan de base a las decisiones que sobre la inocuidad de empleo puedan tomarse. Un estudio bien orientado de las reacciones de los animales de experimentación a la administración de aditivos alimentarios, o de los mismos productos alimenticios elaborados, podría proporcionar las pruebas necesarias para tomar tales decisiones. A medida que se acumulen datos en el campo de la fisiología general y de la bioquímica se irán comprendiendo cada vez más claramente los efectos de las sustancias del tipo de los aditivos alimentarios. El hecho de que éstos puedan ser ingeridos durante la mayor parte de la vida de un individuo hace temer que esta prolongada ingestión pueda producir reacciones hasta ahora insospechadas. El mejor modo de examinar experimentalmente las posibilidades de que se produzcan estas reacciones como consecuencia de la ingestión de aditivos alimentarios es administrando a los animales durante la mayor parte, o la totalidad de la vida de éstos, dosis mucho más elevadas de dichas sustancias. A falta de indicaciones en contra, estos ensayos prolongados deberán formar parte de todo trabajo experimental destinado a suministrar pruebas en favor de una pretendida inocuidad de un aditivo alimentario.

No se insistirá nunca bastante en que tanto la realización de los experimentos que tienen por objeto demostrar la inocuidad de un aditivo alimentario como la evaluación y la interpretación de los datos obtenidos de estos experimentos son de la responsabilidad del hombre de ciencia. Para poder tomar decisiones justas respecto al empleo de los aditivos alimentarios, los datos científicos que se reúnan deberán presentarse en una forma que permita a cualquier especialista dotado de la experiencia apropiada hacer una evaluación adecuada de los resultados. Las decisiones a que lleguen los grupos de expertos de diferentes países con respecto a un determinado aditivo alimentario pueden variar, puesto que la importancia relativa de los diferentes aspectos del problema puede ser influida por las circunstancias, las costumbres dietéticas o la legislación de la colectividad a que el grupo de expertos sirve.

Ninguna serie determinada de ensayos podría abarcar adecuadamente, sin desperdicio de material, el ensayo de sustancias de estructura y función tan diversas como son los aditivos alimentarios. El Comité considera, por lo tanto, que no es conveniente el establecimiento de una serie uniforme de procedimientos experimentales normalizados y obligatorios. Además, esto no resolvería necesariamente las dificultades con que a veces se tropieza para llegar a tomar decisiones sobre la inocuidad del empleo de los aditivos alimentarios. Por esta razón, el Comité ha llegado a la conclusión

de que con respecto a los procedimientos de ensayo únicamente es posible formular recomendaciones de carácter general.

El Comité desea subrayar el hecho de que tales recomendaciones no eliminan la necesidad de investigar otros métodos que pudiesen ser más sencillos y más apropiados para los fines que se persiguen. Aunque pudiera existir unanimidad respecto a la valía de determinadas técnicas, la satisfactoria evolución de métodos mejores depende de la existencia de una libertad científica total en este campo. En todo momento, un rápido avance en cualquiera de las ciencias básicas podría sugerir nuevas formas de realizar las investigaciones toxicológicas. El hombre de ciencia puede hacer un uso inmediato de tales progresos en el laboratorio, mientras que el incorporar cualquier modificación señalada como conveniente a unos procedimientos de ensayo recomendados oficialmente exigiría mucho más tiempo. El Comité subraya vehementemente la necesidad de apoyar los trabajos de toda especie que puedan ayudar al mejoramiento de los métodos existentes para la evaluación de la inocuidad de empleo de un aditivo alimentario.<sup>a</sup>

La finalidad general de los trabajos para los que se ofrece orientación en este informe es la de establecer la « inocuidad de empleo » de un producto químico ; no se limita a un estudio de la toxicidad en sí misma, o de los « procedimientos toxicológicos ». La mayoría de los investigadores están de acuerdo en que casi todos los productos químicos son nocivos en una ciertas dosis e inocuos en otra, si bien algunos de ellos sostienen que no existe ningún nivel de dosificación inocuo para los cancerígenos comprobados.

El Comité confirma la declaración hecha en el primer informe de este Comité de Expertos de que : « La inocuidad en el uso constituye un factor fundamental » aunque « es imposible establecer una prueba absoluta de la no toxicidad de un cierto empleo de un aditivo ». <sup>b</sup> El caso particular de la idiosincrasia puede ser un ejemplo ilustrativo a tal respecto. Es asimismo importante recordar otro principio enunciado en el mismo informe, a saber : que el empleo de un aditivo alimentario debe ir en beneficio del consumidor.

Los procedimientos reseñados en este informe requieren todos los recursos de un laboratorio bien montado y servido por un personal adecuadamente instruido que pueda consultar la literatura científica de actualidad relativa a un amplio campo de conocimientos. En particular, es fundamental la existencia de instalaciones para albergar un gran número de pequeños animales de laboratorio y un número menor de otras especies.

---

<sup>a</sup> La inocuidad de ciertas sustancias que pasan a los productos alimenticios, tales como los pesticidas y determinados aditivos cuya presencia es accidental, puede evaluarse por métodos semejantes.

<sup>b</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1957, 129, 12 ; *Reuniones de la FAO sobre Nutrición, Serie de Informes*, 1957, N° 15, p. 12

Es asimismo fundamental un personal competente y en número suficiente para atender al cuidado de los animales. El disponer de tales instalaciones en una escala apropiada es muy costoso. Antes de montar un laboratorio para emprender investigaciones toxicológicas hay que examinar estas cuestiones y disponer de los medios adecuados. De ser posible, este laboratorio estará situado en un medio en el que se efectúen investigaciones activas en esferas afines.

Se fomentaría el avance en los trabajos sobre aditivos alimentarios si en las revistas científicas se diese mayor publicidad a los resultados experimentales que se relacionan con aquéllos. En muchos casos estos resultados son solamente asequibles a un grupo restringido. Si se pudiese asegurar la cooperación de todos aquellos que patrocinan estas investigaciones, las organizaciones internacionales podrían estudiar la posibilidad de preparar listas de informes inéditos con vistas a hacerlos más fácilmente asequibles a los investigadores en este campo que lo solicitaran.

## 2. IDENTIFICACION QUIMICA Y FISICA

En su primer informe, el Comité de Expertos subrayaba la necesidad de establecer unas especificaciones para la identificación de los aditivos alimentarios por sus caracteres tanto físicos como químicos y recomendaba que la FAO y la OMS preparasen por medios apropiados un amplio estudio de este asunto.<sup>a</sup> El Comité apoya esta recomendación y recomienda además que podría comenzarse por la publicación de las especificaciones ya establecidas para los aditivos alimentarios más importantes, como son las sustancias antimicrobianas y antioxidantes, que son de importancia especial en las zonas insuficientemente desarrolladas.

Antes de emprender la realización de ensayos de toxicidad, el investigador debe asegurarse de que el material sometido al ensayo posee las mismas especificaciones que el material que luego se ha de usar comercialmente. Deberá conocer también la naturaleza y la cantidad de las impurezas más importantes, puesto que éstas pueden representar un riesgo para la salud mayor que el del aditivo mismo. La naturaleza química y las propiedades físicas de la sustancia que se examina pueden orientar al investigador en el plan de sus experimentos, ya que tales propiedades pueden indicar posibles vías de absorción y metabolismo, así como también los probables efectos biológicos. Sin embargo, debe ponerse de relieve que los efectos tóxicos u otros efectos biológicos del material de ensayo no pueden predecirse únicamente basándose en sus propiedades químicas y físicas.

---

<sup>a</sup> *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1957, **129**, 16, 22; *Reuniones de la FAO sobre Nutrición, Serie de Informes*, 1957, N° 15 pp. 16, 22

Los aditivos alimentarios son generalmente materias que dan origen a algún cambio en las propiedades de las sustancias alimenticias. Aunque los cambios que se producen deliberadamente de este modo deben ser beneficiosos para el consumidor, es evidentemente necesario asegurarse de que otros cambios concomitantes que se produzcan no son perjudiciales. Puede predecirse frecuentemente la naturaleza de las reacciones probables con las sustancias alimenticias, debiéndose proyectar las investigaciones apropiadas a fin de definir todos los cambios importantes que puedan ocurrir. Estos cambios pueden ser de dos tipos. El primero se refiere a la modificación del valor nutritivo. Esto debe estudiarse por medición directa de los apropiados elementos nutritivos por métodos de ensayo químicos o biológicos adecuados. El segundo es la formación de nuevas sustancias, que pudieran ser tóxicas, al modificarse los componentes del producto alimenticio. Deben tenerse también en cuenta los cambios que se verifican en la sustancia ensayada como consecuencia de la preparación culinaria, el almacenamiento o la aplicación de otros tratamientos e incluso los cambios derivados de su adición a las dietas de los animales de experimentación. Estos puntos se estudiarán, en caso necesario, por la investigación toxicológica de los materiales alimenticios tratados. En este tipo de experimentos se puede introducir un factor de seguridad administrando a los animales un alimento sometido deliberadamente a un tratamiento excesivo, en un grado determinado.

Si la cantidad de sustancia añadida al producto alimenticio tiene que estar comprendida dentro de límites especificados, es fundamental un método adecuado de determinación cuantitativa. El poder disponer desde el principio de detalles sobre un método de aislamiento y análisis del material de ensayo que sea eficaz al aplicarlo al producto final, puede facilitar grandemente la investigación y la aceptación del mismo. A veces se olvida que no se puede realizar ninguna determinación exacta de los riesgos inherentes al empleo de una sustancia, aun cuando ésta sea de toxicidad conocida, a menos que puedan medirse las cantidades de ella presentes en el producto alimenticio.

### 3. ESTUDIOS EN ANIMALES

El empleo satisfactorio de animales de experimentación depende del cuidado tomado en la selección y el mantenimiento de los mismos durante todo el experimento. Es importante disponer de buenos locales para su alojamiento, con suficiente ventilación y con una temperatura regulada.

Debe saberse todo lo posible respecto a la duración normal de la vida y la susceptibilidad a las enfermedades naturales, tumores especialmente, de los animales empleados en estudios prolongados. Estos conocimientos son necesarios para poder determinar la importancia de cualquier enfer-

edad en los grupos experimentales. Por esta razón, deben utilizarse ratas o ratones de raza conocida, bien sea criados en el laboratorio o bien adquiridos a un mismo criador comercial, a fin de que dicha información se pueda reunir gradualmente. Por lo que respecta a otras especies, debe conocerse en lo posible la edad y la historia de los animales.

Para los ensayos de alimentación, las ratas se alojarán preferiblemente aisladas y recibirán una dieta básica de composición constante, adecuada para sostener el desarrollo y la reproducción en condiciones ordinarias. Cuando el investigador desee examinar la toxicidad en condiciones de deficiencia dietética, se necesitará, evidentemente, una dieta especial. El empleo constante de dietas inadecuadas en las investigaciones de la toxicidad de un aditivo alimenticio no es, sin embargo, recomendable.

Antes de dar comienzo a una investigación toxicológica hay que prestar cuidadosa atención al plan experimental con objeto de asegurarse de que, mediante el tratamiento estadístico apropiado, se puede extraer la máxima información de los datos. Siempre que se hagan mediciones de las diferencias entre los animales testigos y los experimentales deberá estimarse estadísticamente la importancia de tales diferencias.

Una dificultad no pequeña se presenta a propósito del número de animales que se necesitan para obtener límites de confianza razonables dentro de los cuales se pueda expresar la imposibilidad de descubrir un efecto. La aplicación de los principios estadísticos pertinentes indica la necesidad de usar varios cientos de animales en cada nivel de dosificación para asegurar, con una probabilidad razonable, que en cualquier experimento se puede observar el animal que reacciona positivamente, que puede ser, por ejemplo, uno entre ciento.<sup>1, 7</sup> Incluso así, puede resultar muy difícil descubrir este ejemplar que reacciona anormalmente e imposible atribuir el efecto al material que se ensaya. No es práctico sugerir el empleo de animales en tan gran número. En cambio, se puede confiar en la posibilidad de observar una respuesta en la mayoría de los animales que reciben niveles de dosificación muy superiores a los recomendados para el consumo humano.

### **3.1 Estudios de toxicidad aguda**

#### *3.1.1 Definición*

La expresión « ensayo de toxicidad aguda » implica el estudio de los efectos producidos por el material de ensayo cuando se administra en una dosis única.

#### *3.1.2 Objetivos*

Los ensayos de toxicidad aguda deben proporcionar datos suficientes que permitan realizar comparaciones de la toxicidad de materiales afines

y proporcionar la información necesaria para el planeamiento de futuros estudios. Los ensayos de toxicidad aguda pueden poner de manifiesto variaciones entre especies y suministrar alguna información sobre los síntomas de intoxicación y los efectos patológicos.

### 3.1.3 Procedimientos

3.1.3.1 *Especie y sexo.* Conviene emplear por lo menos tres especies, una de las cuales no pertenezca al grupo de los roedores. En una especie por lo menos se utilizarán ambos sexos.

3.1.3.2 *Realización del experimento.*<sup>2, 3, 6, 7, 8, 15</sup> Cuando las dosis superiores a 5 g por kg de peso corporal no ocasionan muerte alguna en los animales de ensayo resulta innecesaria la determinación exacta de la dosis letal. Con dosis letales inferiores a 5 g/kg se debe determinar por un método apropiado la  $DL_{50}$  de una especie. Para las otras especies, conviene determinar la dosis letal aproximada, cuando ésta es menor de 5 g/kg, a fin de observar si existe una diferencia importante en la sensibilidad de las distintas especies.

3.1.3.3 *Modo de administración.* El material de ensayo debe administrarse por vía oral y vía parenteral. Cuando sea posible, se administrará en forma de solución en agua, aceite comestible u otro disolvente adecuado. Si esto no fuera posible, se podrá usar un agente de suspensión inerte. En todos los casos, debe disponerse de datos de control sobre todo vehículo que se emplee.

3.1.3.4 *Observaciones.* Los animales deberán ser observados durante un periodo de 2 a 4 semanas, según su estado. La observación debe comprender la aparición, naturaleza y duración de los síntomas tóxicos, así como también la mortalidad. Es importante la realización de autopsias de algunos animales que mueran y de algunos de los supervivientes. Se efectuará el examen microscópico de los tejidos si el estudio macroscópico indica la necesidad de ello.

## 3.2 Estudios de toxicidad de corta duración

### 3.2.1 Definición

La denominación de « ensayo de toxicidad de corta duración » (llamado a veces « ensayo de toxicidad subaguda » en la rata y « ensayo de toxicidad crónica » en el perro) implica el estudio de los efectos producidos por el material de ensayo cuando se administra en dosis repetidas a lo largo de un periodo de hasta el 10 % de la vida probable del animal (porcentaje que corrientemente se considera que es de unos 90 días para la rata y de 1 año para el perro).

### 3.2.2 *Objetivos*

Los fines del ensayo de corta duración son examinar la naturaleza biológica de los efectos tóxicos, determinar la posible acción acumulativa, las variaciones en la sensibilidad de las especies, la naturaleza de los cambios macro y microscópicos y el nivel de dosificación aproximado a que estos efectos se producen. El ensayo puede proporcionar información suficiente para poner de manifiesto que el material de ensayo es demasiado tóxico para justificar la continuación del estudio. Puede también suministrar una orientación para la elección de la dosis para los ensayos prolongados e indicar los estudios especiales que puedan ser necesarios.

### 3.2.3 *Procedimientos*

3.2.3.1 *Especie y sexo.* Se utilizarán dos especies por lo menos, entre ellas una roedora y otra no roedora. En la mayoría de los casos la rata es el animal preferido, a no ser que se haya demostrado en experimentos de toxicidad aguda que sea especialmente insensible. Entre los no roedores pueden ser apropiados el perro, el cerdo o el mono.

3.2.3.2 *Número de animales.* Con los roedores, el número de animales debe ser suficiente para permitir una evaluación estadística de los datos. Generalmente se utilizan de 10 a 20 animales de cada sexo para cada nivel de dosificación. Sin embargo, si algunos grupos han de seguir utilizándose en los estudios prolongados, el número será lo suficientemente grande para satisfacer las exigencias de estos ensayos (véase la sección 3.3.3.2, página 12). En el caso de los no roedores, conviene disponer por lo menos de 2 machos y 2 hembras para cada nivel de dosificación.

3.2.3.3 *Edad de los animales.* Las ratas deben someterse a ensayo poco después del destete de forma que se puedan hacer observaciones durante el periodo de máximo desarrollo.

3.2.3.4 *Dosis.* Si no se conoce bien el grado de toxicidad del material a ensayar, es preferible realizar un experimento de tanteo antes de elegir las dosis. En los experimentos de alimentación se debe seleccionar un número suficiente de niveles para asegurarse de que por lo menos un nivel es ineficaz y que se incluyen dosis que producen efectos tóxicos definidos, si esto es factible. Si no se observa ningún efecto a niveles de dosificación del 10 % de la dieta, es totalmente inútil emplear niveles superiores. Es fundamental la inclusión en el experimento de un grupo testigo con dieta no tratada.

3.2.3.5 *Modo de administración.* En los estudios de alimentación, el material de ensayo se debe mezclar uniformemente con la dieta. Puede que sea necesario usar un disolvente volátil, tal como alcohol o acetona, para obtener una buena dispersión del material de ensayo. Hay que tener

cuidado de eliminar el disolvente antes de la administración del alimento. En los estudios de la acción acumulativa, puede que sean más útiles otros modos de administración. Si el material de ensayo es afín a otro de acción biológica bien definida, puede resultar conveniente incluir un grupo de animales que reciban esta sustancia como testigos positivos.

3.2.3.6 *Observaciones.* Las observaciones deben incluir el aspecto general, el comportamiento, el crecimiento y la mortalidad. En algunos casos pueden estar indicados la estimación de la ingestión de alimento, los estudios de la química de la sangre y de la orina y los ensayos de funcionamiento de los órganos. El estudio de los órganos debe comprender el examen macroscópico y microscópico y la medición de los pesos relativos de los órganos en los grupos de ensayo y testigos. En la mayoría de los casos, los órganos cuya observación detallada es más importante son el hígado y el riñón. La elección de los otros órganos para examen de los mismos quedará a juicio del investigador. Debe prestarse atención especial a la posibilidad de realizar cualquier estudio biológico que pudiese conducir a un mejor conocimiento de los efectos del material.

### 3.3 Estudios de toxicidad prolongada (crónica)

#### 3.3.1 *Definición*

El término « ensayo de toxicidad prolongada » se refiere al estudio de los efectos producidos por el material de ensayo cuando se le administra en dosis repetidas durante un periodo de tiempo más prolongado. Este periodo de tiempo se extiende generalmente a la mayor parte de la vida probable de las especies de vida corta y, a veces, a toda la vida y a más de una generación de tales especies.

#### 3.3.2 *Objetivos*

Los ensayos de toxicidad prolongada se efectúan para determinar el nivel de dosificación máximo que no produce efectos nocivos discernibles cuando se administra a lo largo de la mayor parte de la vida del animal de experimentación y para revelar efectos que no pueden predecirse con los ensayos de corta duración.

#### 3.3.3 *Procedimientos*

3.3.3.1 *Especie y sexo.* En la generalidad de los casos la rata es la especie elegida. Deben utilizarse animales de ambos sexos. En condiciones determinadas puede estar indicado el empleo de otras especies.

3.3.3.2 *Número de animales.* Debe usarse un número suficiente de animales en cada grupo de experimentación, con el fin de obtener datos para un análisis estadístico adecuado. Hay que prestar atención a la posible

mortalidad, de manera que se disponga de un número suficiente de supervivientes para examen a la terminación del experimento. Esto significa generalmente que debe comenzarse con unas 25 ratas de cada sexo en cada nivel de alimentación. Si se planea el sacrificio de algunos animales para su examen anatomopatológico durante el curso del experimento, puede ser que se necesite un número adicional en cada grupo.

3.3.3.3 *Edad de los animales.* Véase la sección 3.2.3.3, página 11.

3.3.3.4 *Dosis.* Para elegir los niveles de dosificación a administrar, se puede adquirir una información considerable de los ensayos de toxicidad aguda y especialmente de los de toxicidad de corta duración. En muchos casos, son suficientes dos niveles de dosificación y un testigo de la dieta básica sin el aditivo. La dosis mínima debe elegirse de manera que los animales que la reciban a lo largo del periodo de experimentación no es de esperar que acusen efectos nocivos discernibles. Por otra parte, el nivel de dosificación máximo debe ser tal, si ello es factible, que el material de ensayo produzca un efecto definido. Sin embargo, no debe ser tan elevado que la supervivencia disminuya notablemente. No deben emplearse dosis superiores al 10 % en peso de la dieta.

Los niveles de dosificación se expresan generalmente en tanto por ciento en peso del material de ensayo contenido en la dieta básica. Sin embargo, la dosificación puede establecerse en relación con el peso corporal, la superficie del cuerpo, o el aporte de calorías, con el fin de asegurar la uniformidad de dosificación durante todo el periodo experimental y facilitar la comparación de los datos entre especies, incluido el hombre.

3.3.3.5 *Modo de administración.* Véase la sección 3.2.3.5, página 11. Cuando se trate de determinar específicamente la acción cancerígena quizá sea necesario tener en cuenta la conveniencia de la administración por vía parenteral.

3.3.3.6 *Duración del experimento.* Es costumbre dar por terminados los experimentos prolongados con ratas al cabo de 2 años, puesto que generalmente se considera que este plazo de tiempo abarca la mayor parte de la vida de estos animales. Sin embargo, a menudo puede ser conveniente terminar los experimentos antes de este tiempo — por ejemplo entre los 12 y los 18 meses — con objeto de evitar la confusión de los síntomas de toxicidad con los complicados cambios patológicos que se presentan en los animales de edad avanzada. Por otra parte, en casos especiales, por ejemplo, cuando la formación de tumores es de interés primordial, se han recomendado, y pueden ser convenientes, estudios que abarquen la totalidad de la vida y que se extiendan a dos generaciones, en una especie por lo menos.<sup>9, 12, 13</sup>

3.3.3.7 *Observaciones.* Además de las observaciones indicadas en la sección 3.2.3.6, página 12, se debe prestar atención a los efectos sobre

la reproducción, la lactancia y la descendencia. Además, puede que sea conveniente realizar exámenes macroscópicos y microscópicos periódicamente durante el transcurso del ensayo prolongado.

### **3.4 Investigaciones bioquímicas y otras investigaciones especiales**

El conocimiento adecuado del metabolismo y de los efectos bioquímicos de un aditivo alimentario constituye en algunos casos una base satisfactoria para recomendar su empleo o su rechazo. Así, por ejemplo, ciertos aditivos alimentarios tales como el monoestearato de glicerina y el glutamato monosódico han sido aceptados sin gran oposición debido a los conocimientos generales de la absorción de las grasas y de la composición en aminoácidos de los alimentos. La mayoría de las descripciones de ensayos de toxicidad crónica que se han dado a conocer incluyen alguna recomendación de carácter general de estudios metabólicos y bioquímicos.

Los aspectos de las actividades metabólica y bioquímica que podrían estudiarse provechosamente comprenden la vía y la velocidad de absorción del material de ensayo, los niveles de almacenamiento en los tejidos y el destino posterior del material almacenado. Los estudios del metabolismo del material, junto con la identificación de los metabolitos, podrían ampliarse a fin de incluir experimentos de balance metabólico en los que se intentase evaluar qué fracción de la dosis administrada se excreta en forma de metabolitos y qué fracción se almacena en el organismo. Estos estudios se harían desde el principio con niveles de dosificación elevados y se ampliarían para incluir dosis más próximas a los niveles propuestos para los productos alimenticios y comprender también el estudio de los efectos de una administración continuada. Otras investigaciones podrían ser el examen de los procesos enzimáticos que puedan resultar afectados, el efecto de los aditivos sobre el valor nutritivo de la dieta y la posibilidad de formación de sustancias tóxicas durante la elaboración, el almacenamiento y la preparación casera.

En algunos casos puede resultar conveniente, con objeto de adquirir más datos respecto al modo de acción, realizar ciertos estudios en los que se hace uso de técnicas farmacodinámicas. Tales investigaciones podrían muy bien revelar efectos no perceptibles en los ensayos de administración de corta duración y en los prolongados, como son, por ejemplo, los efectos sobre los sistemas cardiovascular, nervioso autónomo o de la reproducción.

Aun cuando se dispone de alguna información básica, por ejemplo sobre el metabolismo de los compuestos fenólicos, el aislamiento y la identificación de los metabolitos principales es a menudo difícil. Las técnicas modernas tales como la cromatografía y los métodos con trazadores radioactivos han ayudado a resolver el problema de la separación de

compuestos desconocidos de mezclas muy complejas. Existen ejemplos en los que un metabolito principal es inactivo y uno secundario es más activo que el material original de que procede. Los estudios de balance metabólico en los que es preciso determinar todos los metabolitos son mucho más difíciles que el estudio usual en el que todo lo que se hace es identificar uno o dos de aquéllos. Puede ser conveniente realizar tales estudios de balance en los aditivos alimentarios, pero esto constituiría una tarea formidable.

La mayor parte de los estudios metabólicos debe realizarse desde el principio a niveles de dosificación elevados si el experimentador ha de tener posibilidad de aislar los metabolitos. En los procesos metabólicos influye la magnitud de la dosis, y la proporción de la dosis excretada en forma de determinado metabolito puede variar según los diferentes niveles de dosificación. Una vez elaborados los métodos de aislamiento, las técnicas con trazadores permitirían estudiar el metabolismo de dosis pequeñas, pero todavía se tropezaría con muchos problemas técnicos. La mayoría de los trabajos sobre metabolismo se han realizado después de administrar una única dosis o un pequeño número de dosis. Se han efectuado pocos estudios de los procesos metabólicos durante la administración continua, si bien se ha especulado algo sobre los posibles efectos de tal dosificación. En el estado actual de los conocimientos, la toxicidad de muchos compuestos no puede explicarse basándose en su metabolismo.

Los estudios bioquímicos de aditivos alimentarios son proyectos a largo plazo que requieren una investigación fundamental y no es probable reemplacen al ensayo de toxicidad crónica en un futuro próximo. Sin embargo, todas las personas y organismos relacionados con la inocuidad de los aditivos alimentarios deben alentar la investigación fundamental del metabolismo y de la bioquímica de estos compuestos como base para estimar su inocuidad.

#### **4. VALOR E INTERPRETACION DE LOS ENSAYOS Y ESTUDIO DE LOS MARGENES DE SEGURIDAD**

La interpretación de la prueba lleva implícito el estudio de la validez de la información suministrada, de su aplicabilidad al hombre y el empleo de márgenes de seguridad en la estimación del nivel de ingestión inocuo.

##### **4.1 Características físicas y químicas**

Antes de que se pueda tomar en consideración el posible empleo de cualquier material como aditivo alimentario, es preciso conocer la naturaleza física y química del mismo. Es necesario decidir si la información

de que se dispone sobre la composición del material, el nivel de pureza atribuido y los métodos de aislamiento, análisis o apreciación son adecuados para asegurar un control apropiado en las condiciones de empleo.

#### **4.2 Estudios de toxicidad aguda**

Frecuentemente, para obtener una indicación de la utilidad de un aditivo alimentario se utiliza una valoración de la toxicidad aguda. Evidentemente, un aditivo alimentario satisfactorio es de suponer que sea una sustancia de una baja toxicidad aguda. Una sustancia que presente una apreciable toxicidad aguda debe considerarse sospechosa en tanto que su inocuidad en condiciones de empleo no quede demostrada por nuevos estudios.

Con frecuencia, y debido a la baja toxicidad del material de ensayo, es solamente posible afirmar que la  $DL_{50}$  excede de 5 g/kg. El valor principal de los ensayos de toxicidad aguda en tales casos es proporcionar datos respecto a los efectos del material de ensayo sobre los sistemas biológicos. Estas observaciones son de gran importancia, puesto que pueden indicar qué estudios ulteriores son necesarios.

Los ensayos de toxicidad aguda deben proporcionar datos sobre la especificidad de las especies. El objetivo de ello es reducir la posibilidad de que algún efecto importante que pudiese producirse en el hombre sea pasado por alto en el animal de ensayo principal.

#### **4.3 Estudios de toxicidad más prolongada**

Los estudios de toxicidad de corta duración y de toxicidad prolongada deben suministrar datos sobre los efectos acumulativos del material de ensayo.

##### *4.3.1 Efectos bien definidos*

Los datos sobre la muerte de los animales, las convulsiones u otros efectos bien definidos pueden expresarse por lo general cuantitativamente y debe ser posible calcular la dosis eficaz para el 50 % de los animales tratados ( $DE_{50}$ ). Debe valorarse la significación estadística de tales observaciones.

##### *4.3.2 Diferencias en el aumento de peso*

Si se observa una diferencia estadísticamente significativa en el aumento de peso, es esencial que se compruebe la cantidad de alimentos ingerida. Si tales diferencias pueden explicarse perfectamente por las diferencias en la ingestión de alimentos, el resultado puede ser atribuible bien a anorexia o bien a que el alimento sea poco apetitoso. Para fijar este punto puede que sea necesaria la alimentación por parejas. Los efectos adversos

sobre el buen sabor de la dieta experimental determinados por el empleo de niveles de dosificación elevados, no guardan relación con el peligro que puedan suponer para la salud.

#### 4.3.3 *Efectos nutritivos*

Si las diferencias en la ingestión de alimentos no explican las diferencias en la ganancia de peso, deberán realizarse estudios para determinar si es defectuosa la absorción o el aprovechamiento de los materiales alimenticios, o si el valor nutritivo de éstos ha sufrido alguna disminución. La naturaleza y la amplitud de toda pérdida importante del valor nutritivo deben determinarse separadamente por procedimientos de ensayo apropiados.

#### 4.3.4 *Estudio de los diferentes órganos*

4.3.4.1 *Pruebas funcionales.* Existen pruebas funcionales para el estudio del tracto gastrointestinal, hígado, riñón, órganos hematopoyéticos, y sistemas nervioso y reproductor, las cuales pueden aplicarse a alguno de los animales de laboratorio comunes. Las pruebas pueden ser de dos tipos, esto es, pruebas de clasificación relativamente sencillas, o estudios más complejos en los que los diferentes aspectos de la función pueden ser analizados separadamente. Estas pruebas proporcionan una útil información cuantitativa, pero hay que recordar que los órganos vitales poseen ordinariamente unas reservas considerables, de manera que su insuficiencia funcional puede no ser aparente hasta que ya se ha producido un daño notable.

4.3.4.2 *Aspecto macroscópico.* Es importante la realización de una autopsia cuidadosa y crítica. Las observaciones efectuadas no pueden medirse fácilmente de un modo cuantitativo, pero sirven de indicadores de la necesidad de un estudio más detallado.

4.3.4.3 *Pesos relativos de los órganos.* Los pesos de los órganos, referidos al peso corporal o a algún otro índice común, pueden compararse en los grupos experimentales y en los grupos testigo. En el caso de que se observen diferencias estadísticamente importantes esto indicará la necesidad de un estudio más detenido. Tales diferencias, sin embargo, no señalan forzosamente la existencia de un efecto nocivo, ni éste queda excluido por la ausencia de aquéllas.

4.3.4.4 *Histopatología.* Las diferencias en el aspecto microscópico pueden ser el primer síntoma de toxicidad observable. Se citan ejemplos en los que el método histopatológico fue el único que puso de manifiesto un efecto perjudicial. La importancia de los estudios histopatológicos en este campo es, pues, evidente. Por otra parte, solamente una proporción extremadamente pequeña del gran número de preparaciones microscópicas

ha suministrado datos positivos útiles en los estudios toxicológicos de los aditivos alimentarios. No debe escatimarse esfuerzo alguno para reducir el trabajo que suponen los exámenes histopatológicos corrientes en estos estudios mejorando las observaciones más sencillas y que exigen menos tiempo, tales como el aspecto macroscópico y los pesos de los órganos, de manera que el estudio histopatológico crítico se pueda limitar en definitiva a aquellos casos en los que sea del máximo valor.

#### 4.3.4.5 *Organos que pueden suministrar datos útiles*

a) *Organos de eliminación.* Los principales órganos de eliminación: riñones, hígado y tracto gastrointestinal, deben someterse a un estudio apropiado.

b) *Organos hematopoyéticos y sistema reproductor.* Aunque estos órganos tienen importancia por sí mismos, son, quizás, de especial interés en las investigaciones de que se trata porque en ellos se realiza una activa proliferación celular y su estudio puede ayudar, por consiguiente, a poner en claro los efectos citotóxicos.

c) *Otros órganos.* Cuando exista una indicación especial de posibles efectos en otros órganos, tales como el tiroides o el cerebro, se realizarán las investigaciones apropiadas.

#### 4.3.5 *Acción cancerígena*

Debe prestarse gran atención a la presencia de tumores. Si se observasen más tumores en los animales sometidos a tratamiento que en los testigos, o si existiese una relación química entre el aditivo que se examina y los cancerígenos conocidos, estaría indicado un estudio especial encaminado a la evaluación de una posible acción cancerígena. Aun cuando estos estudios pueden ser valiosos para comprobar la acción cancerígena, no existen, por desgracia, métodos completamente satisfactorios en la actualidad para la evaluación de este peligro para el hombre. Sin embargo, en el caso de las sustancias de las que no se sospecha claramente que tengan acción carcinógena basándose en los conocimientos actuales, el ensayo antes propuesto que abarca todo el ciclo vital, puede considerarse como una salvaguardia razonable contra la inclusión de un cancerígeno como aditivo alimentario.

El Comité considera que los problemas de la acción cancerígena química y de la acción mutagénica, que no se limitan únicamente a los aditivos alimentarios, son bastante importantes para merecer mayor consideración en fecha posterior por parte de un grupo de investigadores entre los cuales figuren algunos debidamente calificados en el campo de la investigación del cáncer. El Comité cree, sin embargo, que ninguna sustancia que se haya comprobado que es cancerígena debe considerarse adecuada para ser empleada en cantidad alguna como aditivo alimentario.

#### 4.4 Estimación de niveles probablemente inocuos para el hombre

Indudablemente, las indicaciones adecuadas deducidas de los estudios hechos en el hombre son las más satisfactorias para la valoración del riesgo para la especie humana. Sin embargo, la realización de tales experimentos presenta muchas dificultades y, por esta razón, hay que depositar la confianza en otros elementos de juicio. Por lo que a los experimentos con animales se refiere, el empleo de dosis elevadas de la sustancia de ensayo y la extensión de las investigaciones a varias especies diferentes justifican la extrapolación de los datos al hombre.

Como resultado de estas diversas investigaciones se puede determinar un nivel de dosificación que no ocasione ningún efecto demostrable en los animales utilizados. En la extrapolación de esta cifra al hombre conviene dejar un cierto margen de seguridad que cubra la posible intervención de varios factores: diferencias de susceptibilidad entre las especies, diferencias numéricas entre los animales sometidos a ensayo y la población humana expuesta al riesgo, mayor variedad de procesos patológicos que complican la cuestión en la especie humana, dificultad de estimar las cantidades ingeridas por el hombre y posibilidad de una acción sinérgica de los aditivos alimentarios.

Sería útil intentar definir aquí la dosis diaria considerada como tipo. Esta dosis se considera que es la cantidad de aditivo alimentario que se puede suponer que consume un adulto medio que ingiera una dieta normal, establecida a base de los resultados de la oportuna encuesta alimentaria. En estos cálculos debe suponerse que todos los productos alimenticios que puedan ser tratados con el aditivo contienen éste al nivel propuesto.

Es imprescindible la aplicación de algún factor arbitrario, con el fin de proporcionar un adecuado margen de seguridad. Cuando la dosis máxima que no produce efecto en los animales se calcula en gramos por kilogramo de peso corporal, se utiliza frecuentemente un margen de seguridad del orden de 100. El Comité estima que, mientras no existan pruebas en contrario, este margen de seguridad es adecuado.

La exactitud con que puede definirse la dosis máxima que no produce efectos en los animales varía, evidentemente, con los datos que se obtengan. Cuando el aditivo propuesto posee una toxicidad baja, puede que resulte imposible demostrar ningún efecto biológico perjudicial. A condición de que todos los efectos que pudieran predecirse basándose en los conocimientos actuales hayan sido excluidos satisfactoriamente, puede aplicarse también el margen de seguridad del céntuplo a la dosis máxima no productora de efectos administrada en tales casos. Esto limita claramente el posible nivel de empleo diario de un aditivo alimentario. Este margen de seguridad abarca la mayoría de las sustancias propuestas hasta ahora como aditivos. Sin embargo, debería prestarse una mayor consideración en casos específicos en que intervienen sustancias relativamente inertes.

## 5. RECOMENDACIONES A LA FAO Y A LA OMS

El Comité recomienda que la FAO y la OMS :

- 1) presten todo su apoyo a los estudios de investigación que puedan ayudar al desarrollo de mejores métodos para la evaluación de la inocuidad de los aditivos alimentarios ;
- 2) convoquen un Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios con el fin de proceder a la redacción de especificaciones convenidas para varios de los aditivos alimentarios más importantes ;
- 3) estudien la conveniencia de encomendar el problema de la posible acción cancerígena y mutagénica de los aditivos alimentarios a un grupo de expertos apropiado ;
- 4) exploren la posibilidad de establecer un intercambio de informaciones inéditas referentes a las investigaciones sobre la inocuidad de empleo de los aditivos alimentarios.

## 6. RESUMEN Y CONCLUSIONES

1. El Comité reconoce la necesidad de orientar a los investigadores dedicados al ensayo biológico de los aditivos alimentarios. El establecimiento de una serie uniforme de procedimientos experimentales normalizados y obligatorios originaría, sin embargo, muchas dificultades.

2. Los hombres de ciencia dedicados a estas cuestiones tienen la responsabilidad, no sólo de indicar en la forma más completa posible los trabajos que deben realizarse, sino también la de evaluar las pruebas que pueden servir de base para tomar decisiones sobre la inocuidad.

3. El Comité pone de relieve la necesidad de establecer especificaciones para la identificación de los aditivos por sus caracteres químicos y físicos, tal como se propuso en el primer informe del Comité, y recomienda que se emprenda la publicación de las especificaciones convenidas de los aditivos alimentarios más importantes.

4. Se presenta un esquema de los procedimientos que deben seguirse en los estudios de la toxicidad aguda, de corta duración y prolongada. Estos ensayos se han estudiado desde el punto de vista de la contribución que cada uno de ellos pueda aportar a la determinación de la inocuidad de empleo.

5. El conocimiento adecuado de los efectos metabólicos y bioquímicos de un aditivo alimentario puede proporcionar, en ciertos casos, una base satisfactoria para las recomendaciones sobre la inocuidad de empleo.

Se mencionan algunos aspectos bioquímicos cuyo estudio podría ser beneficioso.

6. La interpretación de las pruebas exige el estudio de la validez de la información obtenida, de su aplicabilidad al hombre y el empleo de márgenes de seguridad en la estimación del nivel de ingestión inocuo.

7. El Comité considera indispensable la continuación y ampliación de las investigaciones que se relacionen con los procedimientos utilizados para determinar la inocuidad de los aditivos alimentarios como único medio de disponer de métodos más sencillos, más exactos y más económicos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Barnes, J. M. & Denz, F. A. (1954) Experimental methods used in determining chronic toxicity; a critical review. *Pharmacol. Rev.*, **6**, 191
2. Bliss, C. I. (1938) The determination of the dosage-mortality curves from small numbers. *Quart. J. Pharm.*, **11**, 192
3. Finney, D. J. (1952) *Statistical method in biological assay*, London
4. Frazer, A. C. (1952) Problems arising from the use of chemicals in food. *Chem. and Ind.*, 456
5. Great Britain, Medical Research Council, Toxicology Committee (1957) Assessment of toxicity. *Monthly Bull. Minist. Hlth (Lond.)*, **16**, 2
6. Horn, H. J. (1956) Simplified LD<sub>50</sub> (or ED<sub>50</sub>) calculations. *Biometrics*, **12**, 311
7. Lehman, A. J. et al. (1955) Procedures for the appraisal of the toxicity of chemicals in foods, drugs and cosmetics. *Food Drug Cosmet. Law J.*, **10**, 679
8. Litchfield, J. L., jr, & Wilcoxon, F. W. (1949) A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol.*, **96**, 99
9. Shubik, P. & Sicé, J. (1956) Chemical carcinogenesis as a chronic toxicity test. *Cancer Res.*, **16**, 728
10. Tollenaar, F. D., Mossel, D. A. A. & Genderen, H. van (1952) Non-nutrient chemicals in food. *Chem. and Ind.*, 923
11. Truhaut, R. (1955) Le problème de l'introduction volontaire de substances chimiques étrangères dans les aliments. *Bull. Soc. sci. Hyg. aliment. (Paris)*, **43**, 79
12. Truhaut, R. (1956) Les risques d'action cancérigène des substances étrangères ajoutées en vue d'améliorer les qualités organoleptiques des aliments. *Ann. Falsif. (Paris)*, **49**, 107, 163
13. Truhaut, R. (195-) Les critères d'évaluation des dangers de cancérisation. *Bull. Ass. franç. Cancer* (En prensa)
14. United States of America, National Academy of Sciences & National Research Council, Food and Nutrition Board, Food Protection Committee (1954) *Principles and procedures for evaluating the safety of intentional chemical additives in foods*, Washington, D.C.
15. Weil, C. S., Carpenter, C. P. & Smyth, H. F., jr (1953) Specifications for calculating the median effective dose. *Amer. industr. Hyg. Ass. Quart.*, **14**, 200

**ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD  
SERIE DE INFORMES TECNICOS**

*Informes recientes*

	Precio		
	s. d.	\$	Fr. s.
109. (1956) <b>Comité de Expertos en Formación Profesional y Técnica del Personal Médico y Auxiliar</b> Tercer Informe (21 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
110. (1957) <b>Comité de Expertos en Insecticidas</b> Sexto Informe (100 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
111. (1957) <b>Grupo Consultivo sobre Veterinaria de Salud Pública</b> Informe (30 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
112. (1957) <b>Lucha Antituberculosa — Planes para intensificar la coordinación entre los países europeos</b> Informe de un grupo de estudio (15 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
113. (1957) <b>Diagnóstico de la Leptospirosis y Tipificación de las Leptospiras</b> Informe de un grupo de estudio (13 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
114. (1957) <b>Toxicidad de los Plaguicidas para el Hombre</b> Informe de un grupo de estudio (56 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
115. (1957) <b>Administración de los Servicios de Higiene Maternoinfantil</b> Segundo Informe del Comité de Expertos en Higiene Maternoinfantil (32 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
116. (1957) <b>Comité de Expertos en Drogas Toxicomanígenas</b> Séptimo Informe (16 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
117. (1957) <b>Grupo de Estudio sobre Aterosclerosis y Cardiopatía Isquémica</b> Informe (45 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
118. (1957) <b>Los Accidentes de la Infancia — La observación de los hechos como fundamento de las medidas preventivas</b> Informe de un grupo consultivo (46 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
119. (1957) <b>Grupo de Estudio sobre la Enseñanza de la Pediatría</b> Informe (22 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
120. (1957) <b>Grupo de Estudio sobre Ecología de los Moluscos Huéspedes Intermedarios de la Bilharziasis</b> Informe (41 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
121. (1957) <b>Comité de Expertos sobre la Rabia</b> Tercer Informe (35 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
122. (1957) <b>Función de los Hospitales en los Programas de Protección de la Salud</b> Primer Informe del Comité de Expertos en Organización de la Asistencia Médica (37 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
123. (1957) <b>Comité de Expertos en Paludismo</b> Sexto Informe (93 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
124. (1957) <b>Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Higiene de la Leche</b> Primer Informe (62 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
125. (1957) <b>Comité de Expertos en Insecticidas</b> Séptimo Informe (35 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
126. (1957) <b>Prevención de la Fiebre Reumática</b> Segundo Informe del Comité de Expertos en Enfermedades Reumáticas (30 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
127. (1957) <b>Comité de Expertos en Estandarización Biológica</b> Décimo Informe (37 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
128. (1957) <b>Los Servicios de Laboratorio de Salud Pública</b> Primer Informe del Comité de Expertos en Métodos de Laboratorio de Salud Pública (54 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—

		Precio		
		s. d.	₡	Fr. s.
129.	(1957) <b>Principios Generales que Regulan el Empleo de Aditivos Alimentarios</b> Primer Informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (32 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
130.	(1957) <b>Epilepsia Juvenil</b> Informe de un grupo de estudio (52 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
131.	(1957) <b>Asistencia Médica y Social a los Toxicómanos</b> Informe de un grupo de estudio (21 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
132.	(1957) <b>Conferencia sobre Paludismo para las Regiones del Mediterráneo Oriental y de Europa</b> Informe (52 páginas) . . . . .	3/6	0,60	2,—
133.	(1957) <b>Comité de Expertos en Estadísticas Sanitarias</b> Quinto Informe (24 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
134.	(1957) <b>El Hospital Psiquiátrico, Centro de Acción Preventiva de la Salud Mental</b> Quinto Informe del Comité de Expertos en Salud Mental (19 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
135.	(1957) <b>Comité Mixto OIT/OMS sobre Higiene del Trabajo</b> Tercer Informe (24 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
136.	(1957) <b>Comité de Expertos en Vacuna Antiamarilica</b> Primer Informe (24 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
137.	(1957) <b>Medición del Nivel de Salud</b> Informe de un grupo de estudio (32 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
138.	(1957) <b>Uso de las Especificaciones para Preparaciones Farmacéuticas</b> Informe de un grupo de estudio (31 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
139.	<b>Conferencia Africana sobre Bilharziasis</b> Informe (47 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
140.	(1957) <b>Conferencia sobre Formación de los Médicos Generales en Salud Pública</b> Informe (24 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—
141.	(1957) <b>Quimioterapia y Quimioprofilaxis en la Lucha Antituberculosa</b> Informe de un grupo de estudio (14 páginas) . . . . .	1/9	0,30	1,—

# PUBLICACIONES DE LA OMS

## SUSCRIPCIONES Y PRECIOS PARA 1958

### Suscripción global

La suscripción global comprende todas las publicaciones de la OMS, esto es, la suscripción combinada «C» y, además, la *Serie de Monografías*, las *Statistiques épidémiologiques et démographiques annuelles* y cualquier otra publicación eventual.

£30      \$105,00      Fr. s. 350,—

### Suscripciones combinadas

Para suscripciones combinadas a dos o más publicaciones se ofrecen los precios especiales siguientes :

#### Suscripción

A. <i>Bulletin, Crónica y Serie de Informes Técnicos</i>	£7 15s.	\$28,00	Fr. s. 90,—
B. <i>Rapport épidémiologique et démographique y Relevé épidémiologique hebdomadaire</i>	£6 15s.	\$25,00	Fr. s. 80,—
C. <i>Bulletin, Crónica, Serie de Informes Técnicos, Rapport épidémiologique et démographique, Relevé épidémiologique hebdomadaire, Actas Oficiales y Recueil international de Législation sanitaire</i>	£18	\$70,00	Fr. s. 220,—

Tanto la suscripción global como las combinadas pueden efectuarse, por mediación de los depositarios de las publicaciones de la OMS, solamente por años naturales o civiles (del 1 de enero al 31 de diciembre). El Servicio de Distribución y Ventas indicará, con mucho gusto, el precio de cualquier otra suscripción combinada que se desee.

### Suscripciones individuales

<i>Bulletin</i> , vols. 18 y 19 (12 números)	£5 10s.	\$20,00	Fr. s. 65,—
<i>Crónica</i> , vol. 12 (12 números)	17/6	\$ 3,00	Fr. s. 10,—
<i>Recueil international de Législation sanitaire</i> , vol. 9 (4 números)	£2	\$ 7,50	Fr. s. 25,—
<i>Serie de Informes Técnicos</i> (unos 25 números)	£2	\$ 7,50	Fr. s. 25,—
<i>Actas Oficiales</i> (unos 8 volúmenes)	£3 5s.	\$12,00	Fr. s. 40,—
<i>Rapport épidémiologique et démographique</i> , vol. 11 (12 números)	£3 5s.	\$12,00	Fr. s. 40,—
<i>Relevé épidémiologique hebdomadaire</i> , año XXXIII (52 números)	£3 15s.	\$14,00	Fr. s. 45,—

#### Depositarios de las publicaciones de la OMS

Las publicaciones de la OMS pueden adquirirse — directamente o por mediación de un librero — de los depositarios que figuran en la última página de la cubierta, mediante pago en moneda nacional. Quienes residen en países donde todavía no se hubiere designado ningún depositario podrán solicitar las publicaciones directamente de la OMS, Servicio de Distribución y Ventas, Palais des Nations, Ginebra, Suiza. Los pagos — billetes de banco, cheque o giro postal — habrán de efectuarse, en este caso, en libras esterlinas, dólares de los EE. UU. o francos suizos.