

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 348

INVESTIGACION DE LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS Y DE LOS CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS

Informe de un Grupo Científico de la OMS

| | Página |
|---|--------|
| Introducción | 3 |
| 1. Situación de los conocimientos científicos | 4 |
| 2. Consideraciones generales | 6 |
| 3. Problemas particulares | 8 |
| 3.1 Normas | 8 |
| 3.2 Metodología | 9 |
| 3.3 Interpretación de resultados | 18 |
| 3.4 Decisiones y reglamentación | 21 |
| 4. Resumen y conclusiones | 25 |

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD
GINEBRA

1967

**GRUPO CIENTIFICO DE LA OMS SOBRE INVESTIGACION
DE LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS
Y DE LOS CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS**

Ginebra, 12-18 de julio de 1966

Miembros:

- Dr. M. G. Allmark, Subdirector General (Drogas), Dirección de Alimentos y Drogas, Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Ottawa, Canadá (*Relator*)
- Dr. V. Beneš, Jefe del Departamento de Toxicología, Instituto de Higiene, Praga, Checoslovaquia
- Dr. F. Coulston, Profesor y Director, Instituto de Patología y Toxicología Experimentales, Escuela de Medicina de Albany, N.Y., Estados Unidos de América
- Dr. G. J. van Esch, Jefe del Laboratorio de Toxicología, Instituto Nacional de Salud Pública, Utrecht, Países Bajos
- Dr. L. Golberg, Director, Asociación Británica de Investigaciones Biológicas Industriales, Carshalton, Surrey, Inglaterra (*Presidente*)
- Dr. P. Shubik, Profesor de Oncología, Escuela de Medicina de Chicago, Chicago, Illinois, Estados Unidos de América
- Dr. R. Truhaut, Profesor de Toxicología, Director del Centro de Investigaciones Toxicológicas de la Facultad de Farmacia, Universidad de París, Francia (*Vicepresidente*)
- Dr. R. T. Williams, Profesor de Bioquímica, Escuela de Medicina del Hospital St. Mary, Universidad de Londres, Inglaterra

Representante de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

- Dr. D. M. Smith, Subdirección de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Dirección de Nutrición, Roma, Italia

Secretaría:

- Dr. F. C. Lu, Jefe del Servicio de Aditivos Alimentarios, OMS (*Secretario*)
- Dr. A. C. Frazer, Profesor, Jefe del Departamento de Bioquímica y Farmacología Médicas, Universidad de Birmingham, Inglaterra (*Consultor*)
- Dr. L. W. Hazleton, Presidente, Laboratorios Hazleton Inc., Falls Church, Virginia, Estados Unidos de América (*Consultor*)

© Organización Mundial de la Salud 1967

Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud están acogidas a la protección prevista por las disposiciones sobre reproducción de originales del Protocolo 2 de la Convención Universal sobre Derecho de Autor. Ello no obstante, los organismos gubernamentales, las sociedades culturales y científicas y las asociaciones profesionales pueden reproducir ilustraciones, datos o extractos de esas publicaciones sin necesidad de pedir autorización a la Organización Mundial de la Salud.

Las entidades interesadas en reproducir o traducir íntegramente alguna publicación de la OMS deberán solicitar la oportuna autorización de la División de Servicios de Edición y de Documentación, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza. La Organización Mundial de la Salud dará a esas solicitudes consideración muy favorable.

PRINTED IN FRANCE

11008

INVESTIGACION DE LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS Y DE LOS CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS

Informe de un Grupo Científico de la OMS

El Grupo Científico de la OMS sobre Investigación de los Aditivos Alimentarios y de los Contaminantes de los Alimentos se reunió en Ginebra del 12 al 18 de julio de 1966. Abrió la reunión el Dr. J. Karefa-Smart, Subdirector General. El Grupo eligió, por unanimidad, Presidente al Dr. L. Golberg y Vicepresidente al Profesor R. Truhaut. El Dr. M. G. Allmark accedió a actuar de Relator.

INTRODUCCION

Se convocó la reunión del Grupo Científico a raíz de las recomendaciones formuladas en los informes octavo¹ y noveno² del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Su mandato era el siguiente :

1) examinar, a la luz de los conocimientos científicos modernos, los criterios utilizados para fijar la ingestión diaria admisible de aditivos alimentarios, con objeto de orientar a los futuros Comités Mixtos FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios, a las reuniones conjuntas del Grupo de Trabajo de la FAO sobre Residuos de Plaguicidas y al Comité de Expertos de la OMS en Residuos de Plaguicidas;

2) sugerir los nuevos estudios que convendría emprender sobre los métodos toxicológicos que permitan determinar la inocuidad para el consumidor de los aditivos alimentarios y de los contaminantes de los alimentos.

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1965, 309; *FAO: Reuniones sobre nutrición*, 1965, Informe, Nº 38.

² *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1966, 339; *FAO: Reuniones sobre nutrición*, 1966, Informe, Nº 40.

1. SITUACION DE LOS CONOCIMIENTOS CIENTIFICOS

En el curso de los últimos once años, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios¹ ha preparado nueve informes,²⁻¹⁰ y en las reuniones mixtas FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas se han redactado tres informes,¹¹⁻¹³ todos los cuales tratan de diversos problemas relacionados con la toxicología y la evaluación de la inocuidad de los productos químicos añadidos deliberada o involuntariamente a los alimentos. En el curso de las deliberaciones que llevaron a la adopción de esos informes, se pusieron de manifiesto distintos problemas. Además, durante el mismo periodo se han hecho considerables progresos en muchas disciplinas relacionadas con el estudio de los mismos.

Así se han descubierto y aplicado numerosos métodos de análisis más sensibles para determinar la presencia en el medio de cantidades mínimas de sustancias químicas. El estudio detallado del metabolismo en el plano molecular se ha extendido a toda una serie de problemas y reviste un interés particular para la toxicología. Las transformaciones de las sustancias en el curso de su metabolismo pueden influir sensiblemente sobre su toxicidad; algunos compuestos químicos pueden modificar

¹ En el presente informe, con el término genérico «aditivos alimentarios» se designan no sólo las sustancias añadidas directamente a los alimentos sino las que pasan indirectamente a ellos procedentes de los envases, los residuos de plaguicidas y todos los demás contaminantes que resultan de añadir deliberada o involuntariamente productos químicos a los alimentos.

² *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1957, **129**; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1957, Informe N° 15.

³ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1958, **144**; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1958, Informe N° 17.

⁴ *Specifications for identity and purity of food additives, Vol. I. Antimicrobial preservatives and antioxidants*, Roma, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1962.

⁵ *Specifications for identity and purity of food additives, Vol. II. Food Colors*, Roma, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1963.

⁶ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1961, **220**; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1961, Informe N° 29.

⁷ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1962, **228**; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1962, Informe N° 31.

⁸ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1964, **281**; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1964, Informe N° 35.

⁹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1965, **309**; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1965, Informe, N° 38.

¹⁰ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1966, **339**; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1966, Informe N° 40.

¹¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1962, **240**; Informe de la Dirección de Fito-tecnia y Protección Fitosanitaria, N° PL/1961/11.

¹² WHO/Food Add./23 (1964); FAO Meeting Report N° PL/1963/13.

¹³ WHO/Food Add./26.65; FAO Meeting Report N° PL/1965/10.

la actividad enzimática y otros pueden estimular la producción de enzimas que intervienen en el metabolismo. Por eso, para comprender bien los efectos de un producto químico sobre los sistemas biológicos es necesario conocer lo mejor posible las relaciones existentes entre dicho producto (y sus derivados) y los complejos sistemas enzimáticos de los organismos vivos.

También se han hecho grandes progresos en biología molecular : se conocen más a fondo la estructura y la ultraestructura de las células y los tejidos, y su relación con las funciones puede expresarse hoy día en términos moleculares. Por otra parte, diversas fracciones aisladas de las células o de los tejidos pueden ser objeto de investigaciones detalladas. El microscopio electrónico y la histoquímica se utilizan corrientemente en los laboratorios de patología y de toxicología.

Han mejorado considerablemente el suministro de animales de laboratorio y la calidad de los mismos. Otros adelantos han venido a facilitar el trabajo de los toxicólogos : mejor control genético, posibilidad de disponer de una gama más amplia de especies y utilización de animales protegidos contra los gérmenes patógenos corrientes o completamente exentos de microorganismos.

Estas y otras circunstancias favorables han permitido mejorar los métodos de investigación toxicológica. En general, hoy se pueden estudiar con más precisión o seguir más detalladamente la absorción, la distribución, el metabolismo y la eliminación de una sustancia, descubrir las alteraciones que provoca a su paso por los distintos órganos o sistemas, investigar sus efectos sobre las enzimas o sobre la morfología y relacionar estas observaciones con las alteraciones de las estructuras y de las funciones y con los signos y síntomas de intoxicación. Por lo tanto debería ser posible, en un número cada vez mayor de casos, dar de toda una serie de fenómenos toxicológicos una explicación química o bioquímica.

A medida que los métodos que permiten descubrir las alteraciones de los sistemas biológicos se hacen más sensibles, el investigador debe volverse más crítico en lo que se refiere a la interpretación de los efectos que observa. Los nuevos métodos y las técnicas modernas permiten estudiar a fondo la naturaleza de la respuesta inicial de un organismo expuesto a un producto químico. La interpretación de las observaciones es a menudo difícil y la administración de dosis poco elevadas, en los estudios sobre sustancias de escasa toxicidad, aumenta la dificultad. Es preciso tener igualmente en cuenta los fenómenos de adaptación. Puesto que muchas de las decisiones toxicológicas se basan en la determinación de la dosis máxima desprovista de efectos nocivos, es esencial distinguir claramente esos efectos de las demás alteraciones. En el presente informe se mencionan varios ejemplos de problemas de ese tipo.

Teniendo en cuenta que estos progresos científicos encuentran una aplicación práctica en la evaluación de la inocuidad, es necesario poner

al día las normas destinadas a todos los que se ocupan de aditivos. Es igualmente esencial que los organismos encargados de la reglamentación sean plenamente conscientes de la importancia y del alcance de esos progresos y adopten las medidas necesarias para garantizar la protección de la colectividad.

El Grupo Científico ha examinado con todo detalle un número limitado de métodos especiales entre los muchos que se emplean en toxicología. En el presente informe se exponen sus conclusiones de índole general. Los demás aspectos de este vasto problema deberán estudiarse ulteriormente.

2. CONSIDERACIONES GENERALES

El Grupo Científico aprueba los principios generales enunciados en anteriores informes, así como el enfoque que en ellos se da a estos problemas. Existen, sin embargo, algunas cuestiones de interpretación sobre las que conviene formular ciertas observaciones.

En el primer informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios se decía que «es necesario tomar disposiciones para que se autoricen, con el mínimo retraso posible, los aditivos alimentarios convenientemente ensayados que se consideren oportunos». El Grupo estima que la lista de aditivos autorizados debe permanecer abierta con objeto de poder incluir en ella otras sustancias a medida que lo permitan los progresos técnicos o los nuevos adelantos científicos.

El informe ponía de relieve que «no sería factible para las autoridades competentes limitar grupo alguno a un determinado número, es decir, insistir en que la inclusión de un nuevo aditivo en la lista exige la eliminación de otro ya autorizado». El Grupo Científico estima que la adición de nuevas sustancias a la lista de productos permitidos no entraña necesariamente un aumento de la cantidad global de aditivos utilizados, pues las nuevas sustancias sustituyen en gran medida a los productos más antiguos. Desde el punto de vista de la industria alimenticia, la química de los alimentos es sumamente compleja y, para poder resolver toda una serie de problemas, pueden ser necesarios numerosos aditivos directos diferentes pero por lo general de propiedades análogas. Desde el punto de vista toxicológico, cuanto mayor sea la gama de aditivos disponibles, menor será el riesgo para el consumidor de ingerir un compuesto determinado durante un periodo prolongado o de absorber una dosis elevada o cumulativamente peligrosa. Lo mismo puede decirse de los residuos de plaguicidas.

Es conveniente que los gobiernos controlen la ingestión total de cada aditivo alimentario, mediante encuestas nacionales sobre el régimen alimentario de la población, con el fin de determinar si la cantidad total

de aditivo consumida por día se acerca al máximo admisible. El Grupo ha sido informado de que la Comisión FAO/OMS del Codex Alimentarius utilizará los datos que se obtengan en esas encuestas para llevar a cabo un estudio de alcance internacional.

Desde el punto de vista toxicológico, la forma en que se distribuye el producto químico en la dieta suele importar poco con tal de que el contenido total no exceda de la ingestión diaria admisible (IDA). En algunos casos, las autoridades competentes deciden recomendar la adición de determinado compuesto químico a ciertos alimentos. Si con las concentraciones propuestas se corre el riesgo de que la cantidad de aditivo presente en la dieta se aproxime a la IDA, la presencia previa de dicho compuesto en otros alimentos puede crear dificultades. Plantean problemas de este tipo sustancias que contaminan el medio, residuos de los productos de rociamiento o circunstancias análogas; el Grupo estima conveniente prever en la IDA un cierto margen para hacer frente a esa eventualidad.

Se ha comprobado que muchos aditivos alimentarios se alteran en contacto con plantas o animales o con el propio alimento, y que los productos de esas reacciones son absorbidos por el consumidor. Convendría tratar de determinar lo que ocurre en definitiva con cada uno de esos productos. En los estudios sobre evaluación de la inocuidad debe tenerse en cuenta el carácter más o menos nocivo de cada compuesto formado, pues puede ocurrir que los metabolitos o los productos de desintegración sean más tóxicos que la sustancia de la que proceden. Por el contrario, también puede suceder que, tanto el aditivo inicial como esos productos, queden destruidos o eliminados durante la preparación o la cocción del alimento.

Se ha afirmado que todos los productos añadidos deliberadamente a los alimentos deben ser objeto de una investigación toxicológica particular. Conviene modificar esta regla general en el sentido que a continuación se indica :

a) Muchos aditivos pueden hallarse ya presentes en los alimentos o en el medio. Al evaluar la inocuidad de un compuesto químico, hay que tener en cuenta su eventual existencia en el medio ambiente.

b) Algunos aditivos pueden formar moléculas que ya se hallan presentes en los alimentos en cantidades mucho mayores. Si un estudio bioquímico revela que el aditivo sólo aporta una pequeña contribución a los conjuntos metabólicos formados por los componentes de los alimentos o presentes en los tejidos, tal vez no sea necesario someterlo a un estudio detenido desde el punto de vista toxicológico, siempre que se ajuste a las normas apropiadas. Como ejemplo cabe citar el de un ester de un azúcar y un ácido graso que sería completamente hidrolizado en el intestino, dando lugar a dos sustancias que ya se encuentran en la dieta en una concentración muy superior.

c) Si se comprueba que una serie de sustancias análogas dan lugar a un mismo producto metabólico principal y a otros compuestos que ya se encuentran en el organismo en cantidades superiores o que pueden ser metabolizados fácilmente y sin ningún peligro, es posible limitar los estudios toxicológicos a una sustancia suficientemente representativa de la serie.

d) Los datos toxicológicos necesarios para evaluar la inocuidad no son siempre enteramente suficientes; tal vez convendría, al menos con carácter temporal, autorizar ciertas sustancias, en particular las que se necesitan con urgencia o las que no se encuentran en los alimentos más que en cantidades relativamente mínimas. En consecuencia, se recomienda la adopción de una « ingestión diaria temporalmente admisible » en los casos en que un determinado aditivo sea útil o ya se esté utilizando, pero sobre el cual no se disponga de datos toxicológicos o de otro tipo suficientes para establecer una ingestión diaria admisible siguiendo el procedimiento normal. Más adelante (sección 3.4.2) se examinan los requisitos necesarios para fijar dicha « ingestión diaria temporalmente admisible ». En la sección 3.4.3 se trata del procedimiento para establecer la « ingestión diaria administrativamente admisible » para sustancias presentes en cantidades mínimas.

3. PROBLEMAS PARTICULARES

3.1 Normas

Antes de iniciar un estudio toxicológico, es necesario disponer de normas adecuadas de identidad y de pureza. Los toxicólogos y las autoridades competentes necesitan cerciorarse de que la sustancia que se va a estudiar es la misma que se utilizará en la práctica. Lo ideal es que las normas se establezcan de tal manera que definan un producto que dé resultados biológicos uniformes.

Las normas relativas a los aditivos alimentarios fabricados industrialmente deben ser bastante amplias para comprender todas las variaciones de composición que, según los conocimientos actuales, no modifiquen sensiblemente sus propiedades biológicas. Por ejemplo, a efectos de evaluación toxicológica, se han incluido en una misma norma los monoglicéridos y los diglicéridos de los ácidos grasos comestibles.¹ En todo caso, cada uno de esos grupos de sustancias deberá valorarse por separado, para fijar los límites de composición previstos en una misma norma.

Las normas deben precisar la concentración a partir de la cual las impurezas se consideran actualmente importantes desde el punto de vista

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1964, **281**; *FAO: Reuniones sobre nutrición*, 1964, *Informe* N° 35.

toxicológico, así como los métodos para determinarlas. Mientras no se disponga de métodos más eficaces para determinar la presencia de impurezas tales como plomo, arsénico y otros metales pesados, se deben seguir aplicando las pruebas actuales, con el fin de asegurar la correcta preparación de los alimentos. Aunque, en general, los alimentos se preparan en condiciones de máxima garantía, esas pruebas son indispensables cuando los aditivos alimentarios se fabrican en instalaciones defectuosas o por un personal poco competente.

El Grupo ha quedado enterado de que, en la parte del *Codex Alimentarius* que estará dedicada a los aditivos alimentarios y a los residuos de plaguicidas se indicarán los alimentos a los que esas sustancias serán añadidas y las cantidades admisibles. Las modificaciones en el empleo de esos productos serán igualmente registradas gracias al sistema de revisión permanente del *Codex Alimentarius*.

3.2 Metodología

3.2.1 *Animales de experimentación más adecuados*

Se suele afirmar que en la evaluación toxicológica se debe dar preferencia a los resultados obtenidos en las especies animales más sensibles. El Grupo recomienda, sin embargo, que, siempre que sea posible, se utilicen las especies más apropiadas, es decir las más parecidas al hombre en cuanto a sus características metabólicas, bioquímicas y toxicológicas, para la sustancia de que se trate.

3.2.2 *Investigación en el hombre*

La finalidad principal de los experimentos realizados con animales sobre los efectos biológicos de ciertas sustancias que pueden introducirse en el medio es determinar los posibles riesgos que esas sustancias pueden presentar para el hombre. Uno de los problemas más delicados que plantean estos experimentos es el de la extrapolación de los datos obtenidos en animales para determinar la dosis máxima que puede ingerir el hombre sin peligro. Los fines con que se vaya a utilizar la sustancia no modifican necesariamente la naturaleza de los problemas de investigación que es preciso resolver.

Si se dispone de datos obtenidos en experimentos bien concebidos efectuados en seres humanos, se podrá predecir y prevenir con muchas más probabilidades de éxito el riesgo de intoxicación que puede presentar para la colectividad la introducción en el medio ambiente de un producto químico. A este respecto, es necesario examinar tres aspectos particulares de la toxicología : en primer lugar, la elección de la especie animal que mejor permita predecir la reacción del hombre; en segundo lugar, la investigación de los efectos sensibles específicos observados en la especie más

sensible, a fin de determinar si la sustancia de que se trate representa un riesgo grave para el hombre; y, en tercer lugar, el estudio de los efectos específicos en el hombre.

Estudios sobre el metabolismo. En una fase relativamente temprana de la investigación, es necesario conocer la absorción, la distribución, el metabolismo y la eliminación del producto en el organismo humano, a fin de comparar esos datos con los obtenidos en diversas especies animales y elegir, entre éstas, las que permitan predecir con mayor exactitud la reacción del hombre.

En un informe reciente de un Grupo Científico de la OMS¹ se examinan los problemas que plantean estos estudios que es preciso emprender en el hombre desde las primeras fases de las investigaciones toxicológicas. Cuanto antes se emprendan esos estudios toxicológicos con dosis pequeñas, mejor; pero, no obstante, es necesario conocer ciertos datos toxicológicos elementales experimentando con diversas especies, antes de administrar un nuevo producto químico, aun en dosis pequeñas, a seres humanos.^{1,2,3}

Control del margen de seguridad previsto. Los productos químicos que van a utilizarse como medicamentos deben ser objeto de investigaciones farmacológicas y de ensayos clínicos en el hombre que exigen la administración de dosis biológicamente eficaces. Cuando se examinan otros productos químicos desde el punto de vista toxicológico, es preciso a veces cerciorarse de que el margen de seguridad establecido a partir de la experimentación en el animal es aplicable al hombre. Para ello puede ser útil administrar el producto a voluntarios, pero para proceder a un experimento de ese tipo, es indispensable respetar las siguientes condiciones :

- a) el producto debe haber sido estudiado a fondo en varias especies animales;
- b) el estudio del efecto o de los efectos del producto en seres humanos debe ser claramente necesario y de interés general;
- c) el efecto o los efectos estudiados deben ser reversibles;
- d) la posología adoptada debe basarse en un conocimiento completo de las propiedades toxicológicas de esa sustancia en los animales;
- e) la experimentación debe suspenderse tan pronto se haya comprobado de manera inequívoca el efecto estudiado.

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1966, 341.

² Hayes, W. J., jr (1965) *Research in pesticides*, Nueva York, Academic Press.

³ Ad Hoc Subcommittee on Use of Human Subjects in Safety Evaluation, Food Protection Committee, Food Nutrition Board (1965) *Some considerations in the use of human subjects in safety evaluation of pesticides and food chemicals*, Washington D.C., National Academy of Sciences — National Research Council (Publication 1270).

Efectos específicos en el hombre. El Grupo examinó el hecho de que, cuando se trata de medicamentos, sus efectos sobre los seres humanos pueden ponerse de manifiesto en el curso de ensayos clínicos o por reacciones desfavorables señaladas una vez que el medicamento se encuentra en el mercado.

Ahora bien, cuando se trata de otros productos químicos, no está permitido estudiar esos efectos en voluntarios. Los estudios toxicológicos pueden efectuarse en individuos que, por su profesión, estén expuestos a esos productos o en personas que hayan sufrido una intoxicación accidental. Convendría proceder a un análisis crítico más riguroso de los datos epidemiológicos y toxicológicos obtenidos en esas situaciones. Si se observan efectos inesperados y, al parecer, específicamente humanos, conviene revisar los resultados de los experimentos efectuados previamente en animales, con el fin de determinar si ha pasado desapercibido algún dato útil o si algún otro método no hubiera sido más eficaz para la extrapolación de los datos al hombre.

Voluntarios. La selección de voluntarios para estos experimentos puede plantear diversos problemas de índole ética y jurídica. Como la situación varía mucho de un país a otro, deben ser las autoridades nacionales competentes quienes tomen una decisión sobre el particular.

3.2.3 *Relación entre la edad y el grado de toxicidad*

La respuesta del animal a una sustancia determinada puede variar con la edad. En general, pero no invariablemente, los animales jóvenes son más sensibles a los efectos tóxicos de un producto químico. Esta diferencia puede obedecer a la presencia de una flora característica en el tramo superior del intestino, factor que explica la susceptibilidad de los niños de corta edad a la intoxicación por nitratos. En la mayoría de los casos, sin embargo, las diferentes respuestas que se registran en edades distintas ante un mismo compuesto químico extraño tienen una base enzimática.

El organismo metaboliza muchas sustancias extrañas gracias a las enzimas presentes en el retículo endoplásmico de las células del hígado. Está demostrado que estas enzimas están poco desarrolladas en los animales recién nacidos,^{1,2} quizás por falta de inductores.³ También a este respecto pueden existir notables diferencias según las especies. En la rata, la actividad del grupo de enzimas que participa en el metabolismo de los medicamentos, estudiado principalmente en el hígado, alcanza su

¹ Hart, L. G., Adamson, R. H., Dixon, R. L. & Fouts, J. R. (1962) *J. Pharmacol. exp. Ther.*, **137**, 103.

² Kato, R., Vassanelli, P., Frontina, G. & Chiesara, E. (1964) *Biochem. Pharmacol.* **13**, 1037.

³ Fouts, J. R. (1965) En : Robson, J. M., Sullivan, F. & Smith, R. L. ed., *Embryopathic activity of drugs*, Londres, Churchill.

punto culminante hacia los 30 días de edad, disminuyendo ligeramente a partir de ese momento. Muchos animales recién nacidos, incluido el hombre, presentan una carencia de glucuronilo-transferasa, pero no sucede así con la rata.

Así pues, las enzimas encargadas de metabolizar las sustancias extrañas pueden presentar un nivel muy bajo en los animales recién nacidos, pero aumentar ulteriormente. A veces, se encuentran en individuos recién nacidos de ciertas especies, pero no en los de otras. En cambio, en los individuos recién nacidos de ciertas especies puede encontrarse una pequeña cantidad de enzimas metabólicas, aunque en los adultos de la misma especie no se manifieste ya ninguna actividad enzimática. En todo caso las enzimas que intervienen en el metabolismo pueden ora reforzar, ora reducir el efecto tóxico, pues su acción depende de las propiedades biológicas del sustrato y del producto de que se trate, si bien, por regla general, la acción de dichas enzimas es beneficiosa.

Estas consideraciones deben aplicarse ahora a la cuestión de la posible presencia de aditivos o de restos mínimos de contaminantes en los alimentos de los niños pequeños. Hay que insistir en que, pese a los esfuerzos considerables que a menudo despliegan los fabricantes para evitar toda contaminación de los alimentos infantiles, es muy probable que, en las circunstancias actuales, ciertos residuos de plaguicidas y de otros productos no puedan eliminarse por completo. Además, hay casos en que la adición de ciertas sustancias a los alimentos infantiles, por ejemplo agentes conservadores, ofrece una serie de ventajas que compensan con creces los posibles riesgos. Sin embargo, al añadir esas sustancias hay que obrar con sumo cuidado teniendo en cuenta la posibilidad de que los niños las ingieran durante largos periodos de tiempo.

Las precedentes consideraciones acerca de las diferencias observadas entre las respuestas de diversas especies a los efectos tóxicos de un producto químico muestran claramente que los datos obtenidos en esos estudios, o en otros experimentos realizados con animales jóvenes o recién nacidos, no bastan por sí solos para evaluar con toda garantía la inocuidad de un producto. Para que esta evaluación tenga una base sólida es particularmente importante conocer el metabolismo del compuesto y efectuar otros estudios bioquímicos y toxicológicos en las especies animales más adecuadas. No obstante, los datos pertinentes obtenidos mediante estudios sobre reproducción (multigeneración) aportan ciertas garantías en cuanto a la inocuidad de las sustancias que pueda contener la alimentación de los niños.

Como los niños de corta edad constituyen un grupo especial de la población, una de las medidas más eficaces en la práctica para evaluar los efectos de la ingestión de un producto consiste en seguir muy de cerca la evolución epidemiológica de ese grupo de población. Es necesario conocer más a fondo el desarrollo de los sistemas enzimáticos del niño,

sobre todo en lo que respecta a las enzimas encargadas de metabolizar las sustancias extrañas.

Cuando, para evaluar la inocuidad de un producto, se utilizan animales de edad avanzada, pueden presentarse nuevos problemas. Es preferible efectuar los estudios sobre toxicidad antes de que aparezcan las complicaciones del envejecimiento. En todas estas investigaciones, es esencial anotar la edad de los animales, pues es uno de los principales factores que se deben tomar en consideración al planear el experimento. Conviene reunir más datos fundamentales sobre toxicidad, tanto en lo que respecta a los animales jóvenes como a los más viejos.

3.2.4 *Influencia del estado de nutrición sobre la toxicidad*

El estado de nutrición puede influir sobre la toxicidad. Los efectos de la depauperación o de carencias alimentarias más específicas sobre la respuesta biológica a distintas sustancias varían considerablemente. Por ejemplo, se ha comprobado que la depleción de glucógeno hepático puede inhibir la producción de las enzimas que intervienen en el metabolismo en el ratón y en el cobayo.^{1,2}

El mal estado de nutrición no hace aumentar necesariamente la susceptibilidad a los efectos tóxicos. Por ejemplo, la disminución de las enzimas que intervienen en el metabolismo y que generan productos tóxicos puede reducir dicha susceptibilidad. Los efectos generales de una reducción de la ración alimentaria sobre la respuesta biológica han sido estudiados por Friedman,³ mientras que Hötzel⁴ ha hecho un detenido estudio de los efectos de las carencias alimentarias específicas sobre la toxicidad. Tannenbaum⁵ ha analizado las relaciones existentes entre el estado de nutrición y la carcinogénesis, cuestión que también se ha tratado en el quinto informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios.⁶ La actividad cancerígena tiende a disminuir con la restricción calórica y la deficiencia proteínica y en ciertos casos de carencias nutricionales específicas. La composición de la flora intestinal y ciertas prácticas, como la coprofagia, tienen una gran influencia sobre el estado de nutrición de los animales de laboratorio.

En lo que respecta a los estudios sobre toxicidad, conviene administrar a los animales una alimentación equilibrada y completa, a menos

¹ Dixon, R. L., Shultice, R. W. & Fouts, J. R. (1960) *Proc. Soc. exp. Biol.* (N. Y.), **103**, 333.

² Kato, R. & Gillette, J. R. (1965) *J. Pharmacol. exp. Ther.*, **150**, 279.

³ Friedman, L. (1966) *Fed. Proc.*, **25**, 137.

⁴ Hötzel, D. (1964) *Dtsch. med. Forsch.*, **2**, 105.

⁵ Tannenbaum, A. (1959) *Nutrition and cancer*. En: Homburger, F., ed., *The physiopathology of cancer*, 2ª ed., Nueva York, Hoeber-Harper, pág. 517.

⁶ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1961, **220**; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1961, Informe, N° 29.

que haya razones particulares para no hacerlo así. Los efectos de la depauperación o de las carencias nutricionales específicas sobre las diversas especies animales son muy complejos y, si no se pone cuidado, la malnutrición o las carencias alimentarias pueden falsear los resultados. Importa distinguir claramente entre los estudios que forman parte de proyectos de investigación y los estudios toxicológicos que tienen por objeto evaluar la inocuidad de un producto. Al aplicar los resultados de estos últimos, es preciso tener en cuenta el estado de nutrición de los animales empleados, efectuando los reajustes pertinentes en el margen de seguridad adoptado en cada caso particular. Se efectuarán igualmente los reajustes necesarios para tener en cuenta los elementos pertinentes del medio químico al que está expuesta la población que es objeto del estudio.

En los países donde la malnutrición está muy generalizada también pueden utilizarse aditivos alimentarios o existir alimentos contaminados con productos químicos. El Grupo Científico estima que conviene proseguir los trabajos sobre los efectos de los diversos estados de malnutrición o de desnutrición sobre la toxicidad de los compuestos químicos.

En los estudios toxicológicos corrientes destinados a evaluar la inocuidad de un producto químico no es conveniente modificar la composición de la dieta de los animales utilizados, sea para simular las condiciones de la malnutrición humana, sea para poner de manifiesto efectos tóxicos latentes del producto estudiado.

3.2.5 *Duración de las pruebas de toxicidad con animales*

Para que el intercambio de datos sea verdaderamente útil es necesario hacer descripciones precisas y no contentarse con expresiones tan vagas como « agudo », « subagudo », « a corto plazo » y « crónico ». En cada informe sobre un experimento deben indicarse con precisión la especie, el sexo, la dieta, la vía de administración y la duración del experimento, tanto por lo que se refiere a los animales de prueba como a los testigos, con objeto de definir claramente todas las variables conocidas.

Para determinar la duración de los experimentos con animales destinados a evaluar un aditivo alimentario, es necesario proceder con un criterio científico. Cuando se dispone de datos bioquímicos y toxicológicos suficientes sobre productos químicos muy semejantes a la sustancia que se estudia, las pruebas tendrán por objeto observar si existe alguna discrepancia con respecto a los efectos de dichos productos. Para ello suele ser suficiente una investigación intensiva de pocos meses de duración, siempre que haya sido planeada y evaluada correctamente. Si además se efectúan estudios en seres humanos, los datos que se obtengan serán mucho más completos.

A falta de datos seguros de ese tipo, o si existen razones para sospechar que el producto puede ser cancerígeno, es necesario emprender estudios de mayor duración que permitan obtener resultados de más garantía. Las mejoras introducidas recientemente en la calidad de los animales de experimentación, sobre todo en lo que se refiere a la eliminación de gérmenes patógenos, han prolongado la vida de ciertas cepas de animales. No obstante, se sigue pensando que estudios dietéticos bien planeados y evaluados, de dieciocho meses de duración cuando se trabaje con ratones y de dos años si se utilizan ratas, son suficientes para evaluar, con un mínimo de garantía, el poder cancerígeno de un aditivo químico. En algunos casos especiales, puede ser conveniente prolongar el periodo de observación sobre esas dos especies.

Si hay motivos fundados para dudar de que de los datos obtenidos en roedores se puedan sacar conclusiones válidas aplicables al hombre — por ejemplo, si se comprueba que el hombre metaboliza el aditivo de manera muy distinta que los roedores — puede ser conveniente emprender investigaciones más prolongadas con otras especies. Al planear y ejecutar cualquier estudio sobre la reproducción y la teratogénesis, se debe tener en cuenta la difusión del producto por las vías placentaria y mamaria. Además, la investigación de ciertos efectos tóxicos posibles, en particular de la carcinogénesis, exige una observación atenta y prolongada de la descendencia.^{1,2} Deben estudiarse también detenidamente el aspecto general y el comportamiento de los animales, los efectos bioquímicos, el metabolismo y la histopatología e indicar, en el informe correspondiente, los resultados cualitativos y cuantitativos obtenidos.

Conviene fomentar las investigaciones sobre estas importantes materias.

3.2.6 Estudios sobre enzimas

En los últimos años ha progresado considerablemente el estudio de las enzimas en relación con la farmacología y la toxicología. En la sangre y en los tejidos pueden estudiarse las fluctuaciones de la actividad enzimática provocadas por un producto químico extraño. Cada vez es más evidente que, de todos los mecanismos de acción de las sustancias tóxicas, los más importantes son los de carácter bioquímico. A este respecto, los sectores de actividad que merecen un estudio atento y prioritario son los sistemas enzimáticos fundamentales, pues su inhibición constituye con frecuencia la lesión bioquímica inicial que determina, al menos en parte, la naturaleza de los efectos tóxicos. Basta con recordar, entre otros ejemplos clásicos, el efecto inhibitorio de los cianuros y

¹ Druckrey, H., Ivanković, S. & Preussmann, R. (1966) *Nature (Lond.)*, **210**, 1378.

² Druckrey, H., Ivanković, S. & Preussmann, R. (1967) *Naturwissenschaften* (en prensa).

los sulfuros sobre las citocromo-oxidasas, del anión fluoruro sobre la fosfoenolpiruvasa, de los fluoracetatos sobre la aconitasa, y de la novobiocina sobre la glucuroniltransferasa, para comprender la importancia que reviste esta orientación de las investigaciones para la evaluación toxicológica. La inhibición enzimática puede explicar los fenómenos tóxicos que aparecen en los ensayos efectuados habitualmente con animales de laboratorio o en la observación de seres humanos. Al revelar la fase inicial del proceso, esa inhibición puede también servir de base para la precisión de los efectos tóxicos.

La dificultad radica en decidir qué enzimas conviene estudiar en cada caso y qué medios (humores, tejidos, células, fracciones subcelulares) son los más indicados para medir las variaciones provocadas en la actividad enzimática por la sustancia que se ensaya. Esta es probablemente la razón de que el método se utilice con tan poca frecuencia en los estudios sobre aditivos alimentarios.

Enzimas en la sangre. En otra sección de este mismo informe (sección 3.3.2) se estudia el descenso de la concentración de colinesterasa en la sangre en relación con el tema que nos ocupa.

Un aumento de la cantidad de ciertas enzimas en la sangre puede indicar una lesión tisular; desde este punto de vista se han estudiado las transaminasas y otras enzimas intracelulares. Cuando se produce una lesión tisular, estas enzimas pueden abandonar las células y provocar un aumento sensible de las concentraciones de enzimas en la sangre. En los laboratorios bioquímicos de los hospitales se han estudiado a fondo estas alteraciones en relación con las lesiones del miocardio debidas al infarto; en esos casos la relación cronológica existente entre la lesión del miocardio y la alteración de la concentración de enzimas en sangre es muy importante. También se han observado alteraciones de las transaminasas glutámico-pirúvica y glutámico-oxalacética, consecutivas a una lesión hepática. Se ha establecido igualmente una relación entre las lesiones tisulares de otros varios órganos y las modificaciones de la concentración de diversas enzimas en la sangre.¹⁻⁴ Estas alteraciones enzimáticas pueden ser útiles pues permiten descubrir lesiones tisulares sin necesidad de sacrificar el animal. Sin embargo, si la lesión se produce gradualmente, las enzimas pueden abandonar las células sin que su concentración en la sangre registre un aumento apreciable.

Enzimas en los tejidos. Algunos aditivos alimentarios actúan por inhibición de la actividad enzimática. Así, en los mohos, el ácido sórbico

¹ Chirskey, M., Wolff, R. J. & Sherry, S. (1957) *Amer. J. med. Sci.*, **233**, 400.

² Koide, H. & Oda, T. (1959) *Clin. chim. Acta*, **4**, 554.

³ Somerville, R. L., Fleisher, G. A. & Dearing, W. M. (1960) *Gastroenterology*, **39**, 574.

⁴ Wroblewski, F. & La Due, J. S. (1956) *Ann. intern. Med.*, **45**, 801.

inhibe diversas enzimas, entre ellas la catalasa y la alcohol-deshidrogenasa; este efecto está probablemente relacionado con las propiedades fungostáticas de ese ácido. Sin embargo, en el organismo animal, la degradación metabólica del ácido sórbico impide su administración por vía oral en dosis suficientes para provocar una importante inhibición de la deshidrogenasa.¹ Conviene fomentar el estudio de los efectos de los aditivos alimentarios sobre las enzimas.

Además del efecto inhibitorio, la concentración de enzimas en los tejidos puede también dar indicaciones sobre la toxicidad. Como ya se ha dicho, cuando las células sufren una lesión, las enzimas intracelulares pueden pasar al torrente sanguíneo. La cantidad de enzimas que entran así en la sangre depende de la velocidad a la que abandonan la célula y de la rapidez con que son inactivadas o eliminadas. La intensidad y la gravedad de la lesión y la duración del proceso de alteración desempeñan un papel importante en la determinación de las concentraciones sanguíneas. La pérdida de enzimas tisulares reduce la concentración de las enzimas en las células, a menos que la regeneración se efectúe al mismo ritmo que la pérdida. Así pues, de la concentración de las enzimas celulares se puede deducir si la lesión es aguda o crónica y la determinación de esa concentración puede ser útil para diferenciar las alteraciones debidas a un agente tóxico de otras alteraciones celulares u orgánicas desprovistas de interés toxicológico.

Otro aspecto de las alteraciones enzimáticas, que también ofrece interés para la toxicología, es la inducción de las enzimas que metabolizan los medicamentos, especialmente en el hígado. Algunas sustancias provocan un aumento considerable de muchas de estas enzimas, que se encuentran en los microsomas de las células hepáticas. Este aumento permite al animal metabolizar cantidades mayores del sustrato y de otras sustancias. Los productos del metabolismo pueden ser más o menos tóxicos que la sustancia inicial. Si los productos son menos tóxicos, la tolerancia del animal a la sustancia inicial puede reforzarse considerablemente. Sin embargo, no todos los productos químicos estimulan la producción de enzimas metabolizadoras y en algunos casos hay que esperar varias semanas antes de poder observar una inducción. Como ejemplos del primer caso, cabe citar el paratión y el isopropanol y del segundo, el carbaril y, en menor grado, el metoxicloro y el TDE.² Estas alteraciones bioquímicas pueden o no guardar relación con alteraciones ultraestructurales de las células hepáticas; suelen ser rápidamente reversibles y pueden representar la adaptación de la célula al producto administrado. Es de esperar que la investigación de estos fenómenos, como parte de los estu-

¹ Melnick, D., Luckmann, F. H. & Gooding, C. M. (1954) *Food Res.*, **19**, 44.

² Stein, W. H., Serrone, D. M. & Coulston, F. (1965) *Toxicol. appl. Pharmacol.*, **7**, 499.

dios sobre la bioquímica y el metabolismo, contribuya de manera decisiva a esclarecer las relaciones entre los aditivos y otros compuestos químicos presentes en el medio.

3.2.7 Estudios especiales

3.2.7.1 *Efectos mutágenos.* La capacidad mutágena de los agentes químicos representa un problema porque, a pesar de que el hombre está cada vez más expuesto a sustancias químicas existentes en el medio, se conocen mal los riesgos que pueden presentar a este respecto. Ha sido necesario ocuparse de los efectos genéticos de los productos químicos al estudiar el peligro que representan las radiaciones ionizantes.¹

No se debe descuidar este problema porque representa uno de los riesgos posibles de la exposición a los productos químicos. Sin embargo, en lo que respecta a los aditivos alimentarios, es preciso situar siempre este riesgo en el conjunto de los riesgos toxicológicos, con inclusión de los posibles efectos mutágenos de los propios alimentos. El Grupo pone de relieve lo difícil que es sacar conclusiones acerca de los peligros que los aditivos alimentarios pueden representar para el hombre, partiendo de datos experimentales sobre los efectos mutágenos de los productos químicos obtenidos en estudios de sistemas bacterianos, fermentos o *Drosophila*; estas técnicas especiales, utilizadas corrientemente para descubrir los efectos mutágenos, no pueden recomendarse como parte de la investigación a que habitualmente se someten los aditivos alimentarios. Es necesario proseguir las investigaciones sobre estos problemas.

3.2.7.2 *Efectos teratógenos.* Se entiende por efecto teratógeno la intoxicación del embrión o del feto, que entraña una anomalía congénita. El Grupo no se considera actualmente en condiciones de recomendar ninguna prueba específica para descubrir las sustancias teratógenas, algunas de las cuales, sin embargo, pueden aparecer en el curso de los estudios sobre reproducción normalmente recomendados como parte de las pruebas corrientes aplicables a los aditivos alimentarios. El Grupo estima que es necesario mejorar las pruebas a fin de que ofrezcan garantías suplementarias y conviene proseguir las investigaciones en ese sentido. Como en la actualidad se realizan importantes trabajos sobre teratología, sería bueno que los especialistas dedicados al estudio de los aditivos alimentarios siguieran de cerca los progresos que se realizan en esa disciplina.

3.3 Interpretación de resultados

3.3.1 Disminución del ritmo de aumento ponderal

Este efecto puede obedecer a numerosos factores, como el cambio de las cantidades de agua, de alimentos o de calorías ingeridas, el aumen-

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1962, 248.

to de la eliminación de agua o el aprovechamiento defectuoso de los elementos nutritivos absorbidos. Estos diversos cambios pueden deberse a un efecto tóxico del producto que se estudia o a otras causas ajenas a la evaluación de su toxicidad, como, por ejemplo, a una diarrea de origen osmótico provocada por la administración de una dosis muy elevada de la sustancia que se ensaya o a un cambio de sabor de los alimentos debido a la presencia del producto. Es preciso, mediante estudios adecuados, establecer una clara diferencia entre los efectos realmente tóxicos y los efectos debidos a otras causas. Una disminución del ritmo de aumento ponderal acompañada de una reducción correspondiente de la ingestión de alimentos no se debe atribuir automáticamente al mal sabor del producto, puesto que la disminución voluntaria de la ración puede deberse a una anorexia de origen tóxico. Si realmente existe un problema de mal sabor, puede ponerse de manifiesto mediante una prueba de preferencia en la que se compararán los alimentos administrados al grupo experimental y al grupo testigo.¹

3.3.2 *Inhibición de las colinesterasas*

Diversas sustancias, entre ellas muchos compuestos de fósforo orgánico usados como plaguicidas, provocan una reducción sensible de la concentración de las colinesterasas tanto en el plasma como en los eritrocitos. Sin embargo, existe una correlación muy baja entre el nivel de colinesterasa y los signos y síntomas de toxicidad. Los niveles de colinesterasa en la sangre pueden indicar si el individuo se halla en contacto con una sustancia inhibidora de la colinesterasa, pero no sirven para determinar de manera fidedigna el grado de intoxicación presente o previsible. En general, la falta de correlación entre la actividad de una enzima determinada, o la concentración de un producto químico o de alguno de sus metabolitos en un sector particular (por ejemplo, en la sangre), y la presencia de síntomas o signos de intoxicación puede deberse al hecho de que las alteraciones enzimáticas o químicas más significativas se producen en otro punto del organismo (por ejemplo, en las terminaciones nerviosas). Por eso, puede ocurrir que las modificaciones medidas sólo guarden relación con los cambios que interesan el punto más sensible y no representen más que una pequeña parte de las alteraciones posibles. En cambio, otras enzimas, productos químicos o metabolitos pueden estar más estrechamente relacionados con el mecanismo tóxico. Aunque las alteraciones del nivel de colinesterasa en la sangre sean de utilidad para los estudios toxicológicos, sería conveniente proseguir las investigaciones con objeto

¹ Sharratt, M., Frazer, A. C. & Cutler, M. (1964) *Methodological studies in the assessment of the acceptability of a food additive*. En : *Proceedings of the First International Congress of Food Science and Technology*, Nueva York, Gordon & Breach, p. 583.

de descubrir una relación lo más estrecha posible entre los índices obtenidos y las modificaciones bioquímicas ligadas a los efectos tóxicos. A este respecto, debe prestarse una atención especial al método de medición de las colinesterasas.

3.3.3 *Hepatomegalia*

En los estudios toxicológicos se señala con frecuencia un aumento del volumen hepático sin otras modificaciones aparentes de este órgano. Habitualmente se considera que la hepatomegalia indica una alteración patológica, y esta interpretación se ha utilizado al establecer las llamadas concentraciones «sin efecto». Es lógico admitir, sin embargo, que la hepatomegalia no siempre es patológica y, en algunos casos, una investigación adecuada puede poner de manifiesto que se trata sencillamente de una respuesta fisiológica a una sobrecarga funcional. Este razonamiento, por muy lógico que parezca, necesita sin embargo confirmación. El Grupo Científico recomienda que se investigue detalladamente la hepatomegalia en el curso de las pruebas toxicológicas (como se indica más adelante) y que se estudie no sólo el peso absoluto del hígado (medido en condiciones uniformes), sino también la relación existente entre éste y el peso corporal, siempre que el desarrollo y el estado de los animales permitan calcular de manera fidedigna el peso del hígado. Si no se puede aplicar este método a causa, por ejemplo, de la emaciación del animal, el peso del hígado se debe relacionar con el del corazón o el del cerebro, a fin de facilitar la comparación con los grupos testigo.

En los estudios sobre los aditivos alimentarios se suele administrar la sustancia que se ensaya en distintas dosis; algunas de éstas rebasan con mucho las dosis que en cualquier caso se administrarán al hombre y representan inevitablemente una sobrecarga funcional para el hígado, cuando este órgano interviene en su metabolismo. Se sabe que, en esas circunstancias, el retículo endoplásmico de las células hepáticas se suele hipertrofiar para aumentar la producción de enzimas y facilitar así el metabolismo del compuesto químico. Por lo tanto, es muy probable observar hepatomegalias en los animales utilizados para estudiar los efectos biológicos de las nuevas sustancias destinadas a servir de aditivos alimentarios. Para apreciar completamente el alcance de esas observaciones, se recomiendan los estudios siguientes :

- 1) morfología hepática; estudios ultraestructurales;
- 2) investigación detallada de la relación entre la hepatomegalia, la posología y el momento de aparición de la hipertrofia en el curso de los experimentos sobre alimentación;
- 3) reversibilidad de la hepatomegalia en caso de administración ininterrumpida del compuesto a la misma dosis y cuando se suspende su administración;

4) otros criterios para evaluar la respuesta hepática y relaciones entre ellos, la dosis y la hepatomegalia. Esos criterios pueden comprender, entre otros, la actividad de las enzimas hepáticas que actúan sobre los microsomas (enzimas metabolizadoras de medicamentos), la actividad de la glucosa-6-fosfatasa o la de otros indicadores de las alteraciones hepáticas consecutivas a la acción de la sustancia ensayada.¹

3.3.4 *Sarcomas locales*

En el quinto informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios² se estudiaba el significado de los sarcomas que aparecen como consecuencia de una inyección subcutánea. En dicho informe se llegaba a la conclusión de que, en ciertos experimentos, la aparición del sarcoma venía determinada por las características físicas de la sustancia ensayada y se recomendaba que se prosiguieran las investigaciones sobre ese punto. Hoy, teniendo en cuenta los progresos realizados desde entonces, se recomienda :

a) que se renuncie a la inyección subcutánea en las pruebas *ordinarias* a que se someten los aditivos y otros contaminantes de los alimentos, a menos que circunstancias especiales, como la falta de absorción por vía gastrointestinal de la sustancia normalmente administrada a los animales de laboratorio, exijan estudios adicionales;

b) que no se considere la aparición de un sarcoma local, a raíz de la inyección subcutánea de un aditivo alimentario o de un contaminante, como un signo manifiesto de su efecto cancerígeno; sin embargo, este fenómeno pone de relieve la necesidad de buscar minuciosamente en el conjunto del organismo eventuales manifestaciones cancerígenas administrando la sustancia por otra vía parenteral o de nuevo por vía oral.

3.4 Decisiones y reglamentación

3.4.1 *Margen de seguridad*

Es necesario prever un cierto margen de seguridad al extrapolar la ingestión diaria admisible para el hombre a partir de la dosis más elevada que no ejerce efecto sobre el animal. Ha encontrado gran aceptación un coeficiente arbitrario de 100, y ésta es la cifra que recomienda en su segundo informe el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios.³ En la práctica los márgenes de seguridad oscilan entre

¹ Golberg, L. (1966) *Proc. Europ. Soc. Study Drug Tox.*, 7, 171.

² *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1961, 220; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1961, Informe N° 29.

³ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1958, 144; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1958, Informe N° 17.

10 y 500, según la naturaleza y la cantidad de los datos disponibles. En el establecimiento del margen de seguridad hay que tener en cuenta los siguientes puntos :

1) *Concentración « sin efecto »*. Sería conveniente estudiar más detenidamente el significado de la expresión « sin efecto ». Es evidente que la concentración dietética máxima que no causa efectos *nocivos* es la que debe servir de base para el establecimiento de la ingestión diaria admisible en la alimentación humana. Ahora bien, no siempre es fácil saber si un efecto observado es nocivo o no. Por ejemplo, la diarrea puede ser un efecto tóxico o deberse al fenómeno osmótico que acompaña con frecuencia a la administración de una dosis elevada de la sustancia ensayada; la disminución del ritmo de aumento ponderal puede deberse a una anorexia tóxica o a un cambio de sabor de los alimentos. Si los fenómenos físicos (como la ósmosis) o de otro tipo (como el cambio de sabor o el estímulo de las enzimas metabolizadoras en el hígado), debidos a la administración de una dosis elevada de la sustancia de prueba pero que no guardan relación con su efecto tóxico, se incluyen entre los efectos tóxicos al determinar la concentración « sin efecto », será lógico aplicar un margen de seguridad inferior al que exige un efecto tóxico inequívoco.

Mientras no se disponga de pruebas que demuestren lo contrario, conviene suponer que cualquier efecto observado es tóxico. La obligación de probar que un efecto observado no es tóxico incumbe al investigador. Ciertas características, como la reversibilidad y la diferenciación de los efectos a dosis más bajas, pueden ayudar a distinguir los fenómenos fisiológicos de los patológicos; conviene fomentar las investigaciones destinadas a esclarecer estos problemas.

2) *Modificación del margen de seguridad*. No es necesario exigir la aplicación rígida de una cifra arbitraria. Una fórmula diferente puede adoptarse en los casos siguientes :

a) *Razones que pueden justificar el aumento del margen de seguridad*

En su sexto informe,¹ el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos propuso la aplicación de un margen de seguridad más elevado en los países que no disponen de expertos en tecnología de la alimentación y en normas alimentarias. En general, las dosis cotidianas admisibles sin reservas se basaban en un margen de seguridad de 100; en muchos casos se ha adoptado un margen de 200.

Puede haber otras razones para adoptar un margen de seguridad más elevado; por ejemplo, los aditivos sobre los que no se dispone de un volumen suficiente de datos toxicológicos. El Grupo ha quedado enterado de la situación y ha recomendado el establecimiento de ingestiones dia-

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1962, 228; FAO: *Reuniones sobre nutrición*, 1962, Informe N° 31.

rias temporalmente admisibles (sección 3.4.2). En estos casos se adoptará un margen de seguridad más amplio y todas las ingestiones diarias temporalmente admisibles se admitirán con reservas.

Otro ejemplo son los aditivos alimentarios previstos para artículos cuya ingestión diaria es muy variable, aunque sólo sea por razones climáticas, como ocurre con los helados y refrescos. Cabe citar también el caso de ciertos productos especialmente populares entre los niños, lo cual puede justificar un aumento del margen de seguridad.

b) Razones que pueden justificar la reducción del margen de seguridad

Desde el punto de vista técnico, la amplitud del margen de seguridad aplicable depende de la información toxicológica disponible. Si un producto añadido involuntariamente a los alimentos es un componente beneficioso de la dieta o forma normalmente parte de los elementos del organismo, puede estar justificado el empleo de un margen de seguridad más bajo. No es posible aplicar un margen de seguridad de 100 a muchos aditivos alimentarios frecuentes como, por ejemplo, el cloruro sódico. Hay también muchas sustancias, algunas de las cuales se pueden emplear como aditivos alimentarios, que el organismo humano tolera muy bien a ciertas dosis. El interés de los datos obtenidos en el hombre se examina en otro lugar de este informe (sección 3.2.2). Los datos válidos obtenidos en el hombre tendrán preferencia sobre las predicciones obtenidas por extrapolación de los estudios en animales; en esos casos es posible emplear márgenes de seguridad inferiores.

Cuando los datos biológicos pertinentes (toxicidad aguda y a largo plazo, reacciones bioquímicas e histopatología) revelan una respuesta uniforme para la especie de que se trate y cuando el criterio más sensible para medir un determinado efecto no ofrece lugar a dudas y ese efecto es reversible, entonces puede y debe aplicarse un margen de seguridad sensiblemente más bajo a la « concentración sin efecto ». Lo mismo ocurre cuando la determinación de la concentración « sin efecto » de un producto se ha basado en la inhibición de la colinesterasa o en la hepatomegalia compensadora. En esos casos el margen de seguridad puede reducirse considerablemente por debajo del coeficiente habitual de 100, siempre que los datos biológicos suplementarios sean satisfactorios. Sin embargo, en ningún caso se invocará esa consideración para justificar el empleo del aditivo en cantidades superiores a las necesarias para el fin que se persigue.

El margen de seguridad aplicable a la concentración « sin efecto tóxico » en la extrapolación de los datos obtenidos en el animal al hombre es un elemento fundamental para el cálculo de ciertos valores, como la ingestión diaria admisible y las tolerancias. Es importante, por lo tanto, evaluar cuidadosa y detalladamente todos los datos obtenidos en el animal y relativos a la exposición probable. Conviene fomentar la continua-

ción de las investigaciones en esta esfera. Los trabajos exploratorios sobre nuevas especies animales, nuevas técnicas y nuevos sistemas biológicos, pueden aportar datos de interés excepcional para la investigación, sin que sean necesariamente útiles para la determinación de la concentración «sin efecto tóxico». Sólo cuando se compruebe el valor de esos datos, podrán emplearse como factores básicos de evaluación.

Puede afirmarse que el coeficiente 100 representa una base útil de orientación general para establecer el margen de seguridad, pero no debe aplicarse rígidamente. Si, no obstante, se emplea un margen de seguridad distinto, el cambio se ajustará a los principios expuestos.

3.4.2 *Establecimiento de ingestiones diarias temporalmente admisibles*

El Grupo aprueba en principio el establecimiento de ingestiones diarias temporalmente admisibles para los aditivos alimentarios que presenten cierta utilidad y para los que ya están en uso pero sin que se disponga sobre ellos de una información completa con arreglo a las normas actuales. Se recomienda que esas ingestiones diarias temporalmente admisibles se utilicen como base para el establecimiento de tolerancias temporales sólo en el caso de que se cumplan rigurosamente las siguientes condiciones :

1) Cada aditivo químico debe ser objeto de una decisión particular teniendo en cuenta sus ventajas y sus inconvenientes.

2) La ingestión diaria temporalmente admisible se fijará sólo para un periodo de tiempo limitado, de 3 a 5 años.

3) Al establecer una ingestión diaria temporalmente admisible, se indicarán claramente los datos bioquímicos y toxicológicos suplementarios indispensables para poder fijar ulteriormente la ingestión diaria admisible. Se precisará por qué los demás datos son esenciales para la protección del consumidor.

4) Antes de que expire el periodo provisional habrá que proceder a una revisión de los datos iniciales y de los que se hayan resumido después.

3.4.3 *Establecimiento de la ingestión diaria administrativamente admisible para residuos de plaguicidas*

El Grupo ha examinado diversos tipos de aditivos alimentarios y ha llegado a la conclusión de que en el caso de ciertos plaguicidas sería conveniente adoptar una «ingestión diaria administrativamente admisible». Esta cifra permitiría a las autoridades competentes fijar en cada caso una tolerancia determinada o una «concentración insignificante». A este respecto han de tenerse en cuenta sobre todo los siguientes factores :

1) Naturaleza de la sustancia.

2) Cantidad del residuo y existencia de métodos de análisis eficaces para su determinación.

3) Existencia de datos toxicológicos y biológicos suficientes para el establecimiento de una ingestión diaria administrativamente admisible.

4) Ausencia de razones particulares que justifiquen la exigencia de datos suplementarios.

4. RESUMEN Y CONCLUSIONES

Especificaciones

Antes de iniciar un estudio toxicológico es preciso disponer de normas adecuadas de identidad y de pureza. Estas normas deben ser lo bastante amplias para comprender todas las variaciones de composición que no modifiquen sensiblemente las propiedades biológicas de los aditivos, y deben incluir los métodos que permiten determinar las concentraciones tóxicas de las impurezas; es preciso seguir aplicando las inspecciones de «represión de prácticas fraudulentas».

Ensayos en animales

Para la evaluación toxicológica se tendrán en cuenta los datos obtenidos, no en las especies animales más sensibles, sino en las más apropiadas.

Investigación en el hombre

Es conveniente, y en muchos casos necesario, estudiar el metabolismo y los efectos de los aditivos alimentarios en el hombre. Esas investigaciones, que se prepararán y controlarán cuidadosamente, desempeñan un papel muy importante en la evaluación de la inocuidad.

Relación entre la edad y la toxicidad

En general, aunque no siempre, los animales jóvenes son más sensibles a los efectos tóxicos de las sustancias químicas. Pueden obtenerse informaciones útiles mediante el estudio de animales recién nacidos o jóvenes, estudios de reproducción y estudios bioquímicos.

Influencia del estado de nutrición sobre la toxicidad

Teniendo en cuenta la complejidad de las relaciones entre el estado de nutrición y la toxicidad, lo mejor, por ahora, es proceder a la evalua-

ción de la inocuidad con animales sanos sometidos a una dieta suficiente y equilibrada.

Duración de las pruebas de toxicidad con animales

La duración de las pruebas necesarias para cerciorarse de que un compuesto es inocuo debe fijarse con cierta flexibilidad. En algunos casos, un ensayo de pocos meses de duración puede bastar para descubrir cualquier anomalía con respecto a las propiedades conocidas de un grupo de productos químicos estrechamente relacionados.

Estudios sobre enzimas

Es de esperar que el estudio de la acción de los aditivos alimentarios sobre los sistemas enzimáticos fundamentales, como parte de las investigaciones sobre la bioquímica y el metabolismo, facilite considerablemente la comprensión de las relaciones entre los aditivos y otros productos químicos presentes en el medio.

Efectos mutágenos

Por ahora no se puede recomendar ninguna prueba específica para evaluar los efectos mutágenos, si bien los estudios que abarcan varias generaciones ofrecen cierta garantía.

Efectos teratógenos

Por ahora no se puede recomendar ninguna prueba específica que permita descubrir los efectos teratógenos, si bien los estudios que abarcan varias generaciones ofrecen cierta garantía.

Disminución del ritmo de aumento ponderal

La disminución del ritmo de aumento ponderal exige nuevos estudios a fin de distinguir los efectos tóxicos de los que no guardan relación con la toxicidad. Un ensayo de preferencia permitirá distinguir entre un cambio de valor y la anorexia tóxica.

Inhibición de las colinesterasas

La concentración de colinesterasas en la sangre puede ser útil como indicación de la exposición del individuo a un producto activo sobre esas enzimas, pero no es un índice preciso del grado de intoxicación.

Hepatomegalia

Se recomiendan estudios suplementarios para evaluar el significado de la hepatomegalia.

Sarcomas locales

La importancia de la aparición de un sarcoma local después de una inyección subcutánea se examina en la sección 3.3.4.

Margen de seguridad

El coeficiente 100 está generalmente considerado como un margen de seguridad suficiente, pero en ciertos casos puede adoptarse un margen mayor o menor.

Establecimiento de ingestiones diarias temporalmente admisibles

Siempre que se reúnan determinadas condiciones se pueden fijar ingestiones diarias temporalmente admisibles para los aditivos alimentarios.

Establecimiento de ingestiones diarias administrativamente admisibles para los residuos de plaguicidas

Siempre que se tengan en cuenta determinados factores podrán establecerse ingestiones diarias administrativamente admisibles para los residuos de plaguicidas.

Otros estudios

El Grupo Científico estima que sería particularmente útil investigar más a fondo las siguientes cuestiones :

1. Formación de los sistemas enzimáticos en el niño y en particular de las enzimas que intervienen en el metabolismo de los productos químicos extraños al organismo. Esa información es esencial para evaluar la inocuidad de los aditivos empleados en los alimentos para lactantes.
2. Efectos de los diversos estados de malnutrición o de desnutrición sobre la toxicidad de los aditivos alimentarios. Estas informaciones serán útiles para seleccionar los aditivos alimentarios en los países donde la malnutrición es frecuente.
3. Duración de las pruebas de toxicidad a largo plazo en especies animales distintas de los roedores. Respecto a la duración de esas prue-

bas en roedores parece existir un acuerdo bastante general, pero en cambio será necesario determinar la duración más conveniente de este tipo de pruebas en especies distintas.

4. Relaciones entre aditivos alimentarios y otros productos químicos presentes en el medio. Es importante obtener información sobre este punto ya que pueden existir en el medio ambiente otros productos químicos que aumenten o reduzcan la toxicidad de un aditivo.

5. Efectos mutágenos de los aditivos alimentarios. Conviene estudiar más detenidamente este problema a fin de encontrar pruebas más precisas para evaluar el riesgo que los aditivos alimentarios pueden presentar a este respecto.

6. Efectos teratógenos de los aditivos alimentarios. Conviene conocer mejor este problema a fin de mejorar los estudios sobre reproducción generalmente efectuados en la actualidad, y de encontrar pruebas más eficaces.

7. Significado fisiológico de la inhibición de la colinesterasa en distintos puntos del organismo. Las informaciones que se obtengan sobre esta cuestión servirán para evaluar la toxicidad de los compuestos cuyo efecto biológico es la inhibición de la colinesterasa.

8. Criterios aplicables para distinguir los efectos biológicos que tienen una importancia toxicológica de los que carecen de ella. Estos criterios son necesarios para planificar adecuadamente las investigaciones toxicológicas.

9. Investigaciones exploratorias sobre el empleo de nuevas especies animales, elaboración de nuevas técnicas y modificación de sistemas biológicos, con el fin de mejorar el valor de la experimentación animal para la extrapolación al hombre.
