

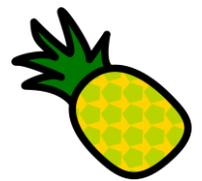
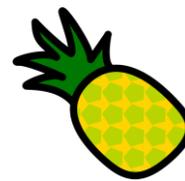
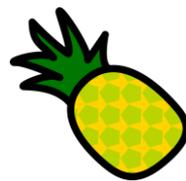


La salud
es de todos

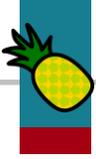
MinSalud

Metodología

Metodologías para Determinar las Dosis
de Referencia Toxicológica de Peligros
Químicos en Alimentos



INSTITUTO
NACIONAL DE
SALUD



Metodologías para Determinar las Dosis de Referencia Toxicológica de Peligros Químicos en Alimentos

Grupo de Evaluación de Riesgos en
Inocuidad de Alimentos ERIA y Plaguicidas

Instituto Nacional de Salud
Ministerio de Salud y Protección Social
República de Colombia

Bogotá D.C. 2017

Metodologías para Determinar las Dosis de Referencia Toxicológica de Peligros Químicos en Alimentos

Instituto Nacional de Salud (INS). Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos (ERIA) y Plaguicidas.

Bogotá D.C. 2017

ISSN: 2422-0965

Documento diagramado en el año 2019

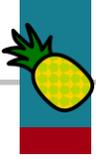
Para citar: Instituto Nacional de Salud; Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos y Plaguicidas (ERIA). Metodologías para Determinar las Dosis de Referencia Toxicológica de Peligros Químicos en Alimentos. 2017.

Todos los derechos reservados. El Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos autoriza la reproducción y difusión del material contenido en esta publicación para fines educativos y otros fines NO comerciales, sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor, especificando claramente la fuente. El Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos prohíbe la reproducción del material contenido en esta publicación para venta, reventa u otros fines comerciales, sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor. Estas solicitudes deben dirigirse al Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos y Plaguicidas (ERIA).

Para solicitudes y comentarios comuníquese a: Avenida calle 26 No 51-20, Bloque B Of. 250 o al correo electrónico eria@ins.gov.co; ERIA 2017

Todos los derechos reservados ©

Colombia 2019



Martha Lucía Ospina Martínez

Directora General Instituto Nacional de Salud

Franklyn Edwin Prieto Alvarado

Director de Vigilancia y Análisis de
Riesgo en Salud Pública

Hernán Quijada Bonilla

Subdirector de Análisis de Riesgo y
Respuesta Inmediata

Oscar Pacheco García

Subdirector de Prevención Vigilancia y
Control en Salud Pública

Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de
Alimentos y Plaguicidas

Grupo de Comunicación del Riesgo



INSTITUTO
NACIONAL DE
SALUD

Alejandro Gaviria Uribe
Ministro de Salud y Protección Social

Carmen Eugenia Dávila Guerrero
Viceministra de Protección Social

Luis Fernando Correa
Viceministro de Salud Pública y Prestación de
Servicios

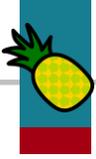
Elkin de Jesús Osorio Saldarriaga
Dirección de Promoción y Prevención

Sandra Lorena Girón Vargas
Dirección de Epidemiología y Demografía



MinSalud

Ministerio de Salud
y Protección Social



Grupo de redacción

Marlib Paloma SANCHEZ TORRES
Médica Cirujana, MSc. Toxicología
Instituto Nacional de Salud

REVISORES CIENTÍFICOS

Internacionales

Gloria Judith VENEGAS CALDERON

Bioquímica farmacéutica
MSc. Toxicología. CIATOX.
Ministerio de Salud Pública del Ecuador

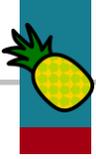
Nacionales

Héctor SUAREZ MAHECHA

Médico Veterinario, PhD en Ciencia de los
Alimentos

Iván Camilo Sánchez Barrera

Ingeniero Químico. Esp, MSc. en Ciencia y
Tecnología de Alimentos
Instituto Nacional de Salud



Revisión de estilo

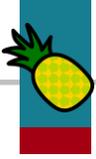
Wilson LARA
Instituto Nacional de Salud

Diagramación y montaje de contenidos

Clara Valeria Suárez Caballero
Asociación Colombiana para el Avance de
la Ciencia - ACAC

Contenido

Contenido	9
1. Dosis de Referencia en Toxicidad Sistémica	17
1.1. Ingesta Diaria Admisible	18
1.1.1. Relación Dosis-Respuesta	19
1.1.1.1. <i>La aproximación NOAEL</i>	20
1.1.2. Factores de Incertidumbre Estándar	22
1.1.3. Derivación de la IDA	24
1.1.4. Ingesta Diaria Admisible Temporal	26
1.2. Dosis de Referencia Aguda (ARfD)	26
1.2.1. Metodología Escalonada OECD	28
1.2.1.1. <i>Paso 1</i>	29
1.2.1.2. <i>Paso 2</i>	29
1.2.1.3. <i>Paso 3</i>	30
1.3. Ingestas Tolerables	30
1.4. Caracterización del Riesgo	31
2. Dosis de Referencia en efectos Genotóxicos y Carcinogénicos	33
2.1. Evaluación Dosis-Respuesta	34
2.2. Caracterización del Riesgo	35
2.2.1. Margen de Exposición	37
2.2.2. Aproximación T25	40
2.2.3. Nivel de Riesgo Mínimo	41



3.	Dosis de Referencia Experimental BMD (Benchmark Dose)	43
3.1.	Identificación del peligro: selección del efecto crítico potencial	46
3.2.	Uso de los datos Dosis-Respuesta en la Caracterización del Peligro	46
3.3.	Caracterización del Riesgo	47
4.	Umbral de Preocupación Toxicológica (TTC)	48
4.1.	Cálculo del Umbral de Exposición en Humanos para Cáncer	50
4.2.	Cálculo del Umbral de Exposición en Humanos para efectos diferentes a Cáncer	52
4.3.	Sustancias no apropiadas para la aplicación de la metodología TTC	55
4.4.	Expresión de los valores TTC con base en el peso corporal	56

Tablas

Tabla 1. Interpretación de la magnitud del MOE	38
Tabla 2. Puntos clave que se deben tener en cuenta cuando se calcule el MOE.....	39
Tabla 3. Umbral de exposición en humanos para cancerígenos.....	51
Tabla 4. Umbral de exposición en humanos para datos de toxicología	53
Tabla 5. Conversión del valor de TTC a $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal día	56



Figuras

<i>Figura 1.</i> La IDA integrada al proceso de evaluación de riesgos.	24
<i>Figura 2.</i> Modelo de Curva Dosis-Respuesta.	45
<i>Figura 3.</i> Esquema genérico para aplicación del TTC	58

Resumen

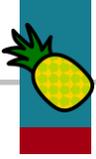
El presente documento hace parte de las guías metodológicas desarrolladas por el grupo ERIA y Plaguicidas. En este caso se hace referencia a la determinación de valores guía basado en salud para peligros químicos en alimentos.

El establecimiento de dosis de referencia toxicológicas proporciona información cuantitativa a los evaluadores y gestores del riesgo que les permite tomar decisiones para la protección de la salud. Los valores desarrollados por JECFA y JMPR para sustancias que pueden ser encontradas en los alimentos y en el agua son una expresión cuantitativa del rango de exposición oral (sea aguda o crónica) que se esperaría que no tuviera un riesgo apreciable en la salud.

Para sustancias adicionadas intencionalmente a los alimentos, como aditivos alimentarios o residuos de plaguicidas y de medicamentos veterinarios la dosis de referencia toxicológica es la Ingesta Diaria Admisible (IDA), que se define como la cantidad estimada de sustancia, expresada con base en el peso corporal que puede ser ingerida diariamente a lo largo de la vida sin un riesgo apreciable en la salud, es un indicador de exposición crónica y se expresa en mg día por kg de peso corporal. Cuando sea necesario se utiliza también la dosis de referencia aguda (ARfD), que es la cantidad estimada de sustancias en alimentos y o agua potable, expresada normalmente con base en el peso corporal, que puede ser ingerida en un periodo de 24h o menos, sin un riesgo apreciable para la salud del consumidor, con base en toda la información disponible en el momento de la evaluación, es un indicador de exposición aguda (IPCS, 2009).

Para los contaminantes alimentarios que son generalmente inevitables, se usa el término tolerable para valores de referencia basados en salud, este término se considera más apropiado que el término aceptable porque implica permisibilidad para la ingesta de contaminantes asociados con el consumo de alimentos saludables y nutritivos. Esto incluye la Ingesta Diaria Tolerable (TDI) para contaminantes en general y agua de consumo, Ingesta Máxima Diaria Tolerable Provisional (PTWI), para contaminantes que no se bioacumulan y la Ingesta Mensual Tolerable Provisional (PTMI), para sustancias que se bioacumulan como es el caso de los metales. El uso del término provisional expresa la naturaleza tentativa de la evaluación, debido a la escasez de datos confiables sobre las consecuencias de la exposición en humanos.

Estos valores pueden ser derivados del NOAEL o la BMD (BMDL) y se denominan POD o punto de referencia. La aproximación NOAEL ha sido usada por cerca de 50 años, sin



embargo; últimamente se ha implementado el uso de la aproximación BMD. El cálculo de una dosis de referencia toxicológica en general puede expresarse de la siguiente manera:

$$\text{Dosis de Referencia Toxicológica} = \frac{POD}{UFs}$$

Donde el UF es el factor de incertidumbre o factor de seguridad. Se use la aproximación NOAEL o la BMD en la evaluación de riesgo, el propósito es definir el efecto adverso que se produce al nivel de exposición más bajo que será utilizado en el cálculo de la dosis de referencia toxicológica. Estas dosis toxicológicas se usan posteriormente para realizar la caracterización del riesgo.

Introducción

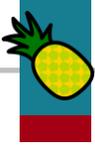
La importancia de definir procedimientos para establecer niveles seguros de sustancias químicas en los alimentos es bien reconocida, además de los potenciales beneficios para la salud, la armonización de metodologías relativas a las normas de alimentos tiene la ventaja económica de remover obstáculos al comercio internacional, ya que el acuerdo en las normas alimentarias mínimas y cuestiones relacionadas es un medio valioso para proteger la salud del consumidor, asegurar calidad y reducir barreras particularmente en los mercados de interacción rápida.

El concepto de identificar “niveles seguros de exposición” en humanos para una sustancia química es fundamental en la evaluación de riesgos de compuestos con perfiles toxicológicos conocidos y sobre los cuales exista información científica publicada. Esto debido a que la aproximación tradicionalmente utilizada en la metodología de evaluación de riesgos, que se divide en identificación del peligro, caracterización del peligro, evaluación de la exposición y caracterización del riesgo, requiere datos provenientes de estudios específicos de toxicidad de la sustancia química evaluada, esta información es utilizada en la elaboración de la identificación y la caracterización del peligro (Kroes et al., 2005).

Cuando se conocen los efectos de la sustancia química esta puede ser caracterizada como un tóxico sistémico o como un tóxico cancerígeno y mutagénico, en cada caso se requiere un enfoque diferente para evaluar los riesgos, debido a la diferencia en los mecanismos de acción que están involucrados en los dos tipos de toxicidad (EPA, 1993).

Los tóxicos sistémicos pueden causar efectos en la función de varios órganos y tejidos con base en el conocimiento de la homeostasis y los mecanismos de adaptación de los organismos, se considera que para la toxicidad sistémica se puede establecer un umbral de exposición identificable (tanto para el individuo como para las poblaciones) por debajo del cual no se observan efectos adversos, ya que existen mecanismos orgánicos homeostáticos, compensadores y adaptativos que deben ser superados antes de que se manifieste un efecto tóxico. Tradicionalmente, se han evaluado efectos sistémicos utilizando términos tales como "ingesta diaria admisible (IDA)", "factor de seguridad (SF)", "dosis de referencia (RfD)" y "margen de seguridad (MOS)" (EPA, 1993).

En cuanto a las sustancias que producen cáncer (cancerígenos), se asume que un pequeño número de eventos moleculares puede inducir cambios en la célula, los cuales pueden conducir a la proliferación celular incontrolada. Para este tipo de efectos no se establecen umbrales o niveles seguros de exposición, debido a que no hay teóricamente ningún nivel



de exposición para tal producto químico que no presente una probabilidad pequeña, aunque finita, de generar una respuesta cancerígena (EPA, 1993).

Por otro lado, cuando no se conoce el perfil toxicológico de la sustancia se puede utilizar el enfoque del umbral de preocupación toxicológica (TTC, por sus siglas en inglés), que es una metodología que puede emplearse para evaluar posibles preocupaciones para la salud humana de alguna sustancia sobre la base de sus características químicas, estructurales y por la exposición estimada, cuando son escasos o inexistentes los datos de toxicidad de un determinado producto químico. Es un enfoque pragmático y científicamente válido para la evaluación de la inocuidad de los productos químicos con relativamente pocos datos en la exposición oral (Kroes et al., 2005).

Finalmente, en el contexto regulatorio el concepto de umbral es importante. La hipótesis de umbral individual sostiene que un rango de exposiciones de cero a algún valor finito puede ser tolerado por el organismo con esencialmente ninguna posibilidad de expresión del efecto tóxico. Sin embargo, es prudente centrarse en los miembros más sensibles de la población; por lo tanto, deben hacerse esfuerzos regulatorios para mantener las exposiciones por debajo del umbral poblacional, el cual se define como el más bajo de los umbrales de los individuos dentro de una población.

En el presente documento se describen las diferentes metodologías para determinar las dosis de referencia toxicológica de peligros químicos en alimentos, se relaciona las metodologías actualmente aceptadas de acuerdo a lo que se encuentra en la literatura científica y a las publicaciones realizadas por las diferentes agencias de inocuidad internacionales y organizaciones intergubernamentales relacionadas con la inocuidad de alimentos.

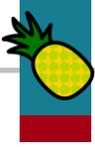
1. Dosis de Referencia en Toxicidad Sistémica

La aproximación para evaluar el riesgo asociado a la toxicidad sistémica es diferente a la metodología para evaluar los riesgos asociados con carcinogenicidad y genotoxicidad, debido a los diferentes mecanismos de acción que se considera están involucrados en los dos tipos de toxicidad. Adicionalmente, a lo largo del tiempo se han utilizado diferentes enfoques para la caracterización del riesgo de los efectos tóxicos que se presume tienen un umbral y para los que se considera carecen de este (EPA, 1993).

El cálculo de dosis de referencia toxicológica es una forma específica de evaluación de riesgo porque define límites de exposición. Se asume, con base en el conocimiento actual de los mecanismos de toxicidad, que existe un umbral para la mayoría de efectos. Un umbral es una dosis o concentración por debajo del cual no se produce ningún efecto adverso, ya sea porque la sustancia no ha tenido efecto o porque los mecanismos homeostáticos del cuerpo han revertido cualquier cambio (ILSI, 2000).

Para realizar la evaluación de riesgo de sustancias químicas que se considera tienen toxicidad sistémica o efectos con umbral, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) y la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas (JMPR, en inglés) han utilizado valores de orientación basados en la salud como la ingesta diaria admisible (IDA), la ingesta diaria tolerable (TDI) y la dosis de referencia aguda (DRfA). La IDA y la DRfA se utilizan generalmente para sustancias que se añaden deliberadamente a los alimentos y para los residuos de plaguicidas y medicamentos veterinarios (que también pueden ser controlados). Cuando se trata de contaminantes inevitables se determina usualmente la TDI (FAO/WHO, 2009).

Ampliando la idea anterior es importante recordar que las autoridades reguladoras distinguen los aditivos y residuos de los contaminantes. Los aditivos son intencionalmente adicionados para producir un efecto técnicamente deseado en el alimento, están aprobados en una lista positiva y pueden ser fácilmente controlados. Del mismo modo, los plaguicidas y los medicamentos veterinarios tienen beneficios en la producción de alimentos, y es posible controlar la cantidad de residuos que persisten en el cultivo o alimento de origen. En contraste, los contaminantes químicos no son deseados y en algunos casos su presencia es inevitable. Por lo tanto, los niveles de contaminantes que se espera que no produzcan efectos nocivos se designan como tolerables (es decir, permisibles) en lugar de aceptables (ILSI, 2000).



1.1. Ingesta Diaria Admisible

En la toxicidad sistémica se emplea el concepto de ingesta diaria admisible (IDA). La IDA se define como la cantidad máxima estimada de una sustancia, expresada con base en el peso corporal, a la que los individuos de una población o subpoblación pueden estar expuestos diariamente durante un período prolongado de tiempo (generalmente una vida), sin riesgo apreciable para la salud (WHO, 2004).

El concepto de IDA es internacionalmente aceptado como la base para la estimación de la seguridad de aditivos, plaguicidas y para establecer legislación en inocuidad de alimentos y agua. En los años 50, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA) estableció recomendaciones sobre el uso de un factor de seguridad de 100 entre la dosis máxima calculada de estudios en animales y la ingesta máxima del químico en la dieta total en humanos (ILSI, 2000).

Basados en el margen de seguridad la JECFA desarrolló el concepto de IDA, una estimación de la cantidad de una sustancia presente en los alimentos o agua potable, expresada con base en el peso corporal, que se puede ingerir diariamente durante toda la vida sin riesgo apreciable (peso humano estándar = 60 kg), la IDA se muestra en unidades de mg por kg de peso corporal. La cantidad se expresa en proporción al peso corporal para establecer diferencias en el peso corporal entre animales y humanos y para tener en cuenta la variabilidad en el peso entre humanos, se relaciona con la ingesta diaria porque se acepta para sustancias que no se acumulan en el organismo, como los aditivos, y se basa en el juicio científico de todos los hechos conocidos al momento de la evaluación, con el objetivo de definir el límite por debajo del cual no se esperan efectos nocivos, o sencillamente, como una ingesta que se cree que es "sin riesgo apreciable" (ILSI, 2000).

Además de JECFA, la IDA fue adoptada por la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas (JMPR) y otras agencias como la FDA y la EPA, aunque en esta última el término IDA es remplazado por dosis de referencia (RfD). En lo referente a los aditivos alimentarios, el fabricante proporciona información que incluye los datos toxicológicos y el uso previsto, si la información es satisfactoria se puede establecer la IDA y el aditivo sería aprobado para comercialización.

El enfoque en el caso de residuos de plaguicidas y medicamentos de uso veterinario es similar, sin embargo, debido a que los plaguicidas están diseñados para ser tóxicos contra las plagas y los medicamentos veterinarios tienen actividad farmacológica, es probable que estas sustancias sean más tóxicas para los mamíferos que los aditivos. Como son también productos necesarios para la producción de alimentos seguros, se les asigna una IDA más

que una ingesta tolerable. En el caso de los plaguicidas se establecen límites máximos de residuos (MRL, por sus siglas en inglés) con base en las recomendaciones de la JMPR, estos límites están diseñados para asegurar que los residuos de plaguicidas en alimentos se mantengan tan bajos como sea posible y se expresan como mg de la sustancia/kg o mg/L en alimentos o agua (ATDST, 1995).

La ingesta potencial de residuos es comparada con la IDA, teniendo en cuenta las concentraciones de todos los alimentos relevantes que una persona comería en un día, para residuos de medicamentos veterinarios y aditivos para piensos el MRL se deriva del cálculo reverso a partir de la IDA, teniendo en cuenta las cantidades máximas de carne y productos lácteos que se consumirían por día.

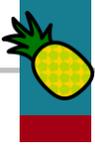
1.1.1. Relación Dosis-Respuesta

El concepto básico subyacente a cualquier evaluación de riesgo químico es la relación dosis-respuesta. La curva dosis-respuesta generalmente se produce de estudios en animales, pero se asume que es válida para población en humanos. En las dosis más bajas no se observan efectos hasta alcanzar el umbral, punto de corte entre niveles de dosis que no tienen efecto y dosis que si tienen. A medida que la dosis va incrementando, un número pequeño de individuos puede empezar a verse afectado, los cuales representarían a la población más vulnerable. A medida que la dosis incrementa, la mayoría y eventualmente toda la población expuesta podría verse afectada. Por el otro lado, en cuanto a la variable respuesta, la severidad de la respuesta incrementa con el incremento de la dosis. Algunas sustancias químicas tienen más de un tipo de efecto tóxico, pero, en general, un efecto se presentará a dosis más bajas, este efecto se conoce como efecto crítico (ILSI, 2000).

Los datos toxicológicos o epidemiológicos de la evaluación dosis-respuesta pueden ser usados para: i) derivar una dosis de referencia basada en salud como la IDA, TDI, o ARfD; ii) estimar el margen de exposición (MOE) entre un punto definido en la curva dosis-respuesta y el nivel de exposición en humanos; iii) cuantificar la magnitud del riesgo a un nivel de exposición específico en humanos. El cálculo del MOE requiere que se defina un punto de referencia o punto de partida (POD) en la curva dosis-respuesta (IPCS, 2009).

Se han utilizado dos aproximaciones en la evaluación dosis-respuesta aplicadas a los datos de estudios en animales:

- Comparaciones pareadas de los hallazgos en diferentes grupos para definir las dosis experimentales estadísticamente significativas que causan efecto y la dosis experimental más alta que no produce un efecto adverso observable en ese estudio



(NOAEL). El NOAEL es luego usado como POD para estimar una dosis de referencia toxicológica. Algunas veces el LOAEL puede ser usado como POD.

- Encontrar un modelo o modelos que se ajusten a los datos dosis-respuesta para definir la relación en el rango observado, el modelo es usado para definir la exposición asociada con un nivel de respuesta específico. Este valor puede ser usado como POD para estimar un valor guía basado en salud, para calcular el MOE, o extrapolar para estimar el riesgo a los niveles de exposición en humanos que son relevantes para la caracterización del riesgo (IPCS, 2009).

Otros métodos alternativos han sido descritos para el cálculo del riesgo a partir de dosis de referencia o de partida, establecidos para el método de la dosis benchmark

- El modelo dosis-respuesta puede ser usado para identificar una dosis con un nivel conocido de respuesta al rango observable o ligeramente por debajo. Una respuesta especificada o nivel de efecto se conoce como respuesta benchmark (BMR) y la dosis asociada con esa respuesta es la dosis benchmark (BMD). El límite de confianza inferior de la BMD la BMDL puede ser usada como POD para la derivación de valores de referencia toxicológica o para calcular el MOE.
- El modelo puede ser usado para encontrar una dosis asociada con una respuesta despreciable en relación con el control, como, por ejemplo, 1 en un millón. En general, esto requiere realizar la extrapolación más allá del rango de datos, lo que genera una incertidumbre considerable (IPCS. 2009).

1.1.1.1. *La aproximación NOAEL*

Para la mayoría de efectos toxicológicos, con excepción de los efectos genotóxicos, o en el caso en el que pruebas extensivas hayan fallado en la identificación de un umbral, se asume que hay un umbral de exposición por debajo del cual no ocurren efectos adversos. La aproximación NOAEL es tradicionalmente el método de elección para determinar el punto de partida para estos efectos, incluyendo carcinogenicidad sin un mecanismo de acción genotóxico (COC, 2014).

El NOAEL se define como la mayor concentración o cantidad de sustancia, determinada por experimentación u observación, que no causa alteraciones adversas detectables en la morfología, capacidad funcional, crecimiento, desarrollo, o expectativa de vida en el organismo blanco, bajo condiciones definidas de exposición (IPCS, 2009).

El NOAEL tiene una amplia historia de uso en los procesos regulatorios de análisis de riesgo y se usa para estimar los valores de referencia basados en salud como la IDA para aditivos, residuos de plaguicidas y residuos de medicamentos veterinarios, las ingestas diarias tolerables (TDI) o las ingestas semanales tolerables (TWI) para contaminantes. Estos valores de referencia toxicológicos se derivan del NOAEL más alto para el efecto más sensible identificado en estudios epidemiológicos en humanos o de estudios crónicos y subcrónicos en animales. Debido a algunas limitaciones que presenta el NOAEL, se han explorado algunos métodos alternativos para establecer el punto de partida (POD), una alternativa es el uso de la dosis benchmark (EFSA, 2009).

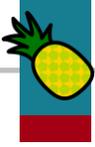
La mayor dificultad de esta aproximación es que depende en gran medida de la sensibilidad del método. Se determina si hay un efecto estadísticamente significativo para cada nivel de dosis separadamente. Cuando la respuesta no es estadísticamente significativa, se considera que el nivel de ingesta no tiene efectos adversos significativos biológicamente. Sin embargo, el poder del estudio para detectar el efecto adverso no es tenido en cuenta (IPCS, 2009).

La dosis más alta administrada a la que no hay diferencia estadísticamente significativa con el grupo control se denomina NOAEL. Para evitar estimados de riesgo demasiado conservadores, la evaluación de riesgo se basa en efectos adversos en lugar de efectos adaptativos menores, debido a que el NOAEL es usado como POD, si se observa una diferencia significativa para un efecto adverso en todos los niveles de dosis, la dosis más baja empleada en el estudio, por ejemplo, el LOAEL (nivel de mínimo efecto tóxico observable) puede ser usada como POD (COC, 2014).

El NOAEL se identifica para el efecto relevante más sensible en la población o especie más susceptible, el efecto adverso asociado con el NOAEL más bajo se considera efecto crítico de importancia en humanos. El NOAEL se deriva de la siguiente manera:

- Para cada efecto adverso se identifica la dosis experimental más alta a la que no se detectaron efectos, se emplea la opinión de expertos y pruebas estadísticas para comparar cada nivel de tratamiento con el grupo control.
- El NOAEL del estudio es el nivel relevante más bajo obtenido de cualquier efecto adverso detectado en el estudio.

Debido a que el NOAEL es la dosis más alta probada sin efecto adverso observado en un experimento en particular, el valor numérico del NOAEL, en consecuencia, va a depender de la selección de los diferentes niveles de dosis cuando se diseñó el estudio y de la capacidad del estudio de detectar efectos adversos, cuando un estudio tiene bajo poder el



NOAEL tiende a ser más alto. Si hay un efecto significativo en todos los niveles de dosis, la dosis más usada en el estudio podría ser establecida como el Nivel de mínimo efecto adverso observable (LOAEL) (EFSA, 2009). Otras características de las que depende el valor del NOAEL son las siguientes:

- El tamaño del grupo: el poder para detectar un NOAEL en algunos niveles de dosis depende directamente del tamaño de la muestra.
- Selección de la dosis: El NOAEL debe ser una de las dosis usadas en el estudio. Si el umbral es mayor que el NOAEL la distancia entre los dos es limitada, mientras que, si el verdadero umbral es menor que el NOAEL, la distancia entre los dos es potencialmente ilimitada.
- Variación experimental: comprende variación biológica (genética), variación entre los sujetos, variación en las condiciones experimentales (tiempo de alimentación, ubicación, tiempo de selección, mediciones provisionales) y errores de medición. Entre mayor sea la variación entre los individuos objeto de estudio, menor será el poder estadístico del estudio y el NOAEL será mayor (IPCS, 2009).

Los factores que se deben tener en cuenta para la identificación del NOAEL incluyen, entre otros: la consistencia de la relación dosis-respuesta y la pendiente de la curva dosis-respuesta cerca al NOAEL. Sin embargo, la identificación del NOAEL no es solamente una decisión estadística, lo que tiene ventajas y desventajas, por un lado, permite rechazar un NOAEL cuando los datos no están adecuadamente soportados, pero puede llevar al establecimiento de diferentes niveles, pues en algunas situaciones se requiere el juicio del experto y por ende diferentes individuos pueden tomar diferentes decisiones (EFSA, 2009).

Pese a la adopción de la aproximación BMD como una alternativa al NOAEL para determinar el POD, todavía existe la necesidad de emplear la metodología NOAEL/LOAEL. No todos los conjuntos de datos pueden ser sometidos a la modelación BMD, como aquellos con disponibilidad incompleta, cuando hay ausencia de modelos que pueden describir el conjunto de datos adecuadamente. Una situación típica en la que se aplica el NOAEL y no la BMD es cuando se observa una respuesta sólo en el grupo de dosis más alta (COC, 2014).

1.1.2. Factores de Incertidumbre Estándar

Estos factores contemplan la incertidumbre que implica la extrapolación de los hallazgos en animales a seres humanos (variación interespecies) y las diferencias en sensibilidad a los efectos adversos entre la población humana (variación interindividual). Otros factores

pueden ser aplicados con base en el análisis caso a caso, para considerar la calidad de los datos de toxicidad y la naturaleza del efecto tóxico. El factor de incertidumbre usado es en esencia un margen de exposición que no resulte en preocupación para la salud humana (COCa, 2012).

El valor numérico del factor de incertidumbre debe ser considerado caso a caso, pero, en general, se recomienda utilizar un factor de 10-veces cuando se extrapolan resultados experimentales válidos de estudios de exposición prologada a humanos sanos promedio. Este factor pretende considerar la variación en la sensibilidad entre los miembros de la población humana y se nombra como "10H". Se usa un factor adicional de 10-veces cuando se extrapola de resultados válidos de estudios a largo plazo en animales de experimentación cuando los resultados de estudios de exposición en humanos no están disponibles o son insuficientes. Este factor tiene por objeto considerar la incertidumbre que implica la extrapolación de datos en animales a los seres humanos y se denomina "10A" (EPA, 1993).

Factores de incertidumbre mayores podrían ser usados para sustancias cancerígenas no genotóxicas, dependiendo de la calidad de los datos de los estudios en animales y de las incertidumbres en la evaluación de los datos toxicológicos. Si los datos disponibles proporcionan información adecuada sobre la variabilidad interespecies o entre individuos, los valores predeterminados podrían ser reemplazados en parte o completamente por factores ajustados específicamente para la sustancia química (Meek et al., 2002).

Se usa un factor adicional de 10-veces cuando se extrapola de resultados de estudios no crónicos en animales de experimentación cuando no hay datos útiles a largo plazo en humanos. Este factor está destinado a considerar la incertidumbre por extrapolar el NOAEL (no crónico) al NOAEL (crónico) y se denomina "10S". Se usa un factor de 10-veces cuando se deriva una RfD de un LOAEL en vez de un NOAEL. Este factor pretende considerar la incertidumbre de extrapolar de un LOAEL a un NOAEL y se denomina "10L" (EPA, 1993).

El factor de modificación (MF, por sus siglas en inglés) es un factor de incertidumbre adicional mayor a cero e inferior o igual a 10. La magnitud del MF va a depender del criterio profesional de las incertidumbres científicas del estudio y de la base de datos; por ejemplo, cuán completa sea la base de datos global y el número de especies ensayadas. El valor predeterminado para el MF es 1 (EPA 1993).

A continuación, en la figura 1, se presenta la forma cómo puede ser aplicado el concepto de IDA en la realización de una evaluación de riesgos:

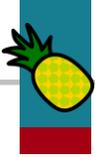


Figura 1. La IDA integrada al proceso de evaluación de riesgos.

Tomado de ILSI, 2000.

1.1.3. Derivación de la IDA

La IDA se deriva del NOAEL, que como se mencionó anteriormente es una dosis determinada experimentalmente en la cual no hay indicios estadísticamente o biológicamente significativos de aparición de efectos adversos. Cuando se extrapola la dosis de una sustancia química que no tiene efectos adversos en animales a un nivel de ingesta que sería seguro en humanos se presentan una serie de incertidumbres (EPA, 1993):

- Extrapolación de animales a humanos: existe incertidumbre en la relación del NOAEL con la dosis umbral, en la predicción de efectos a dosis bajas, basada en estudios realizados con dosis altas (se asume que la toxicidad que se observa a altas dosis en estudios en animales podría teóricamente presentarse en los individuos más sensibles de la población humana con la ingesta de bajas dosis) y hay incertidumbre por las diferencias inter-especie.
- Variabilidad interindividual en la población humana: se presenta variabilidad por factores internos como la genética, el género, el estado de salud, la edad y por factores externos como la nutrición, uso de medicamentos, tabaquismo, consumo de alcohol y exposición a contaminantes ambientales.

Debido a estas incertidumbres se considera necesario adoptar un abordaje conservador, en el cual se asume que los humanos son más sensibles a la toxicidad que los animales de experimentación y, por consiguiente, debe haber un margen de seguridad entre el

NOAEL en animales y el nivel de exposición que se considera aceptable en las personas (ILSI, 2000).

$$IDA = \frac{NOAEL}{Factor\ de\ Seguridad}$$

Como se detalla en el literal 1.1.2, generalmente, el factor de seguridad es un múltiplo de 10 y cada factor representa un área específica de incertidumbre inherente en la disponibilidad de los datos. Por ejemplo, un factor de 10 puede ser introducido para tener en cuenta las posibles diferencias en la respuesta entre animales y humanos y un segundo factor de 10 puede ser usado para considerar la variación en la susceptibilidad entre individuos humanos. El factor de seguridad de 100 se ha considerado apropiado para gran cantidad de sustancias químicas y se ha usado por defecto en las últimas décadas. Para otras sustancias químicas sobre las cuales la información toxicológica no es tan completa, por ejemplo, cuando sólo están disponibles los estudios de evaluación subcrónica, aplicar un factor de seguridad adicional de 10 puede ser apropiado (EPA, 1993).

Aunque esta determinación de la IDA parezca una aproximación simple, en realidad involucra gran experticia y juicio determinar la naturaleza y la relevancia del efecto crítico, identificar los estudios toxicológicos que estiman el NOAEL e identificar cuando las bases de datos indican que se deba usar otro factor de seguridad diferente de 100 (EPA, 1993). Por otro lado, el enfoque tiene algunas limitaciones:

- Al enfocarse en el NOAEL otra información en la curva dosis respuesta puede ser ignorada, esos datos pueden ser importantes en la estimación de niveles de importancia en salud pública.
- A medida que el conocimiento científico incrementa surgen inquietudes sobre la adecuada selección del efecto adverso.
- Las guías que se han desarrollado no han tenido en cuenta la confiabilidad de los estudios toxicológicos.
- Dentro de límites razonables, las exposiciones que superen la IDA estarían relacionadas con un aumento en la probabilidad de efectos adversos, sin embargo, esa probabilidad no es una certeza. De forma similar, aunque la IDA se considera un nivel en el cual la probabilidad de efectos adversos es baja, la ausencia de todo riesgo para toda la población no puede ser completamente asegurada (EPA, 1993).

Por lo anterior se recomienda que cada evaluación sea enfocada cuidadosamente caso por caso según las implicaciones toxicológicas en cada situación, así mismo, considerar que la



IDA es sólo un factor en la decisión de gestión de riesgos y no debe utilizarse con exclusión de otros factores relevantes.

1.1.4. Ingesta Diaria Admisible Temporal

Es utilizada por el JECFA cuando se dispone de datos suficientes para concluir que el uso de la sustancia es inocuo durante el período de tiempo relativamente corto que se requiere para obtener y evaluar datos ulteriores relativos a su inocuidad, pero insuficientes para concluir que el uso de la sustancia es inocuo durante el curso de una vida. Cuando se establece una ingesta diaria admisible temporal (IDAT), se utiliza un factor de inocuidad superior al que se emplea para estimar la IDA y se establece una fecha límite en la cual debe presentarse al JECFA la información apropiada para resolver el problema de la inocuidad. Definiciones establecidas y adoptadas por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios – JECFA (Codex Alimentarius, 1993).

1.2. Dosis de Referencia Aguda (ARfD)

La ARfD de una sustancia química hace referencia a la cantidad de sustancia que puede ser ingerida en un periodo de 24h o menos. La ARfD se compara con datos de exposición de 24h, esto genera una evaluación de riesgo conservadora para efectos reversibles, como la inhibición de la colinesterasa. Por eso la decisión de establecer una dosis de referencia aguda debe estar basada en el perfil de riesgo de la sustancia, así como en las respuestas que son relevantes para los efectos agudos. La mayoría de conceptos científicos que aplican para el establecimiento de la IDA aplican igualmente para el establecimiento de la ARfD (IPCS, 2009).

Para establecer una dosis de referencia aguda, se emplean los datos más apropiados de las bases de datos toxicológicas disponibles. Para algunos compuestos como, por ejemplo, los que cuentan con investigaciones para efectos agudos específicos, la ARfD que se establezca tendrá una incertidumbre relativamente baja. Para otros compuestos, como aquellos con una ARfD basada en estudios de administración de dosis con un margen amplio entre el NOAEL y el LOAEL, el grado de incertidumbre será mayor y la ARfD resultante más conservadora (JMPR, 2006).

Se debe elegir el efecto toxicológico más relevante para la exposición en un día, se debe seleccionar el estudio más relevante en el que los efectos hayan sido adecuadamente investigados. Se identifica el NOAEL para estos efectos y en particular para el efecto más

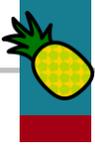
relevante con el NOAEL más bajo. Finalmente se deriva la ARfD, usando los factores de seguridad más apropiados.

Un cálculo más conservador y una mayor incertidumbre se pueden presentar en el establecimiento de la ARfD si se utiliza por defecto el factor de seguridad de 100 (10 por la extrapolación inter-especie y 10 por la variabilidad en la respuesta en la población humana) en ausencia de datos específicos que respalden la aplicación de factores de ajuste químico-específico (CSAF, por sus siglas en inglés). El factor de 10 de la extrapolación de animales de laboratorio a humanos puede ser subdividido en 2.5 por toxicodinamia y en 4 por toxicocinética, mientras que el factor de 10 de variabilidad individual puede ser subdividido en factores idénticos de 3.2 para los dos, toxicocinética y toxicodinamia. La ARfD es en general conservadora. Sin embargo, debido a la generación de información científica referente a toxicidad aguda y al mejoramiento en las guías de procedimiento, un número de ARfD conservadoras que se establecieron inicialmente han sido subsecuentemente modificadas (JMPR, 2006).

En algunos casos se justifica el uso de factores de seguridad que pueden ser más altos o más bajos que los convencionalmente empleados de 10 o 100, esto sucede dependiendo de los datos que estén disponibles. Los datos sobre toxicocinética y toxicodinamia pueden contribuir en la evaluación de la relación del efecto con el pico máximo de concentración plasmática (Cmax) o el área bajo la curva (AUC), cuando el efecto que se está considerando se debe a una interacción reversible de la sustancia con el blanco (receptor o canal), la concentración de la sustancia, más que la exposición total, va a determinar la magnitud del efecto (la Cmax es más relevante que la AUC), esto ocurre con los plaguicidas que inhiben la acetilcolinesterasa y que no requieren activación metabólica. En este caso la variación interespecies e interindividual es menor, lo que justifica una reducción de 2-veces en los factores de seguridad, es decir, un factor compuesto de 25 en lugar de 100 (5 X 5 en lugar de 10 X 10) (JMPR, 2009).

A continuación, se presentan algunos mecanismos de acción relevantes que pueden generar toxicidad aguda: hematotoxicidad (como la metahemoglobinemia y la anemia hemolítica), inmunotoxicidad, neurotoxicidad, alteraciones renales y hepáticas, efectos endocrinos y alteraciones del desarrollo, efectos tóxicos en gestantes en estudios de toxicidad durante el desarrollo y efectos directos en el tracto gastrointestinal (IPCS, 2009; OECD, 2010).

Otros hallazgos que pueden ser relevantes cuando se establece una ARfD son signos clínicos observados en estudios de toxicidad aguda (estudios de Dosis Letal Media –MLD-, estudios de neurotoxicidad), o después de una o varias dosis en exposición oral repetitiva. Las observaciones clínicas pueden incluir (OECD, 2010):



- Síntomas respiratorios: disnea, respiración abdominal, sibilancias, apnea, cianosis y taquipnea.
- Sintomatología oftalmológica: lagrimación, miosis, midriasis, exoftalmos, ptosis palpebral y conjuntivitis.
- Piloerección, salivación y cambios en el tono muscular (aumento o disminución).
- Síntomas dermatológicos: eritema o edema.
- Síntomas cardiovasculares: cambio en la frecuencia cardíaca, vasodilatación o vasoconstricción.
- Alteraciones motoras: alteraciones en la locomoción, ataxia.
- Somnolencia, anestesia, analgesia, catalepsia, temblores, fasciculaciones, convulsiones y alteraciones en los reflejos.
- Sintomatología gastrointestinal: vómito, náuseas, cambios en la consistencia y el hábito intestinal.
- Efectos en sistema urinario: hematuria, incontinencia.

Cambios en el peso corporal o en la ingesta de agua y alimento que ocurran en el periodo de observación después de la exposición aguda o en los primeros días del estudio de dosis pueden ser un indicador de toxicidad general, siempre y cuando se establezca claramente que estos cambios no se deben a un problema de palatabilidad. En cuanto a las mortalidades en animales se pueden considerar para establecer la ARfD, a menos que se determine que no tiene relevancia en la exposición en humanos (OECD, 2010).

1.2.1. Metodología Escalonada OECD

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) encontró necesario el desarrollo de una guía armonizada para el establecimiento de la ARfD que estuviera basada en todos los datos toxicológicos apropiados disponibles. Se estableció un proceso mejorado paso a paso, así como consideraciones específicas relacionadas con la identificación de los efectos críticos más apropiados, pruebas toxicológicas para procesos regulatorios e interpretación de los datos. El objetivo fue promover una base científica armonizada para la derivación de una ARfD idónea para una evaluación de riesgo más refinada en diferentes escenarios de exposición (OECD, 2010).

1.2.1.1. Paso 1

- Evaluar todas las bases de datos de la sustancia. Establecer un perfil toxicológico para los periodos de exposición relevantes. Determinar si hay un efecto adverso que ocurra como resultado de una sola dosis por vía oral al límite de la dosis. Considerar los principios para no establecer la ARfD al límite de dosis.
- Seleccionar la respuesta adecuada para establecer una ARfD: i) Se debe seleccionar el efecto más relevante para la exposición en un solo día en la especie más importante. ii) Seleccionar el estudio más relevante o adecuado en el que estos efectos hayan sido adecuadamente determinados. iii) Identificar el POD para estos efectos. iv) Seleccionar el efecto más relevante con el POD más bajo.
- Seleccionar los factores de evaluación más apropiados para establecer una ARfD: de acuerdo con los datos disponibles se deben seleccionar factores para variabilidad inter-especie e inter-individual. Se propone el uso de factores combinados:

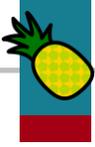
$$(AKAF \text{ o } AKUF) \times (ADAF \text{ o } ADUF) \times (HKAF \text{ o } HKUF) \times (HDAF \text{ o } HDUF)$$

- ✓ AK variabilidad en toxicocinética inter-especie
- ✓ AD variabilidad en toxicodinamia inter-especie
- ✓ HK variabilidad toxicocinética interindividual
- ✓ HD variabilidad toxicodinámica interindividual
 - ✓ AF factor de ajuste químico específico
- ✓ UF representa un sub-factor que se usa por defecto

Se debe determinar si la base de datos es adecuada para respaldar la derivación de CSAF, por ejemplo, 4-veces y 2.5-veces para diferencias inter-especie en toxicocinética y en toxicodinamia respectivamente y un factor de 3.16 para cada diferencia inter-individual en toxicocinética y toxicodinamia. En algunos casos se puede justificar la reducción de las diferencias toxicocinéticas inter-individuales, por ejemplo, con base en la Cmax y en la tasa de eliminación. Si no hay datos adecuados de toxicocinética y toxicodinamia se puede considerar otra información (QSAR, modo de acción). Si no está justificado el refinamiento se usa el factor por defecto de 100 (o 10-veces).

1.2.1.2. Paso 2

- Utilizar la ARfD en la evaluación de riesgo: determinar si la exposición aguda excede la ARfD. Si la estimación de la ingesta aguda no excede la ARfD no se requiere



refinamiento. Si la caracterización del riesgo indica preocupación o se encuentra en el límite superior es necesario realizar un refinamiento de la evaluación.

- Realizar el refinamiento en el cálculo de la exposición para la evaluación de riesgo agudo. Si la caracterización del riesgo continúa indicando una clara preocupación se puede refinar el cálculo de la ARfD.

1.2.1.3. Paso 3

- Refinamiento experimental en la derivación de la ARfD: como último recurso un solo estudio de exposición puede ser considerado para la generación de datos que establezcan y refinen una ARfD más apropiada.

1.3. Ingestas Tolerables

Las propiedades físicas que llevan a la persistencia de una sustancia química en el medio ambiente, resultando en contaminación de los alimentos, también pueden llevar a que el químico sea persistente en el cuerpo humano. Esto significa que los contaminantes pueden acumularse por la ingesta crónica de alimentos contaminados y en consecuencia es necesario tener en cuenta un periodo de referencia más largo, adicional a esto se considera que la evaluación en algunos casos es tentativa, debido a la escasez de datos confiables sobre los efectos de la exposición en humanos a las concentraciones que se espera estén presentes en los alimentos. Por todo lo anterior, en el caso de contaminantes que tengan la potencialidad de persistir en el cuerpo humano se emplea la Ingesta Semanal Tolerable Provisional (PTWI por sus siglas en inglés) (ILSI, 2012).

La PTWI es el valor toxicológico de referencia para contaminantes que pueden acumularse en el organismo, como los metales pesados. Este valor representa la exposición semanal tolerable para el hombre a aquellos contaminantes inevitablemente asociados al consumo de alimentos por lo demás sanos y nutritivos. El término provisional se refiere a que la evaluación no es definitiva, debido a la escasez de datos fiables sobre las consecuencias de la exposición en el hombre. Para contaminantes que no se acumulan en el cuerpo JECFA establece la Ingesta Diaria Tolerable Máxima Provisional (PMTDI por sus siglas en inglés). En esta categoría se pueden incluir elementos traza, que son nutrientes esenciales, así como constituyentes inevitables de los alimentos. En estos casos está indicado un rango, en el cual la concentración más baja corresponde al nivel al cual es esencial (PTWI, 2009).

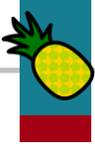
Otro concepto empleado para este tipo de contaminantes es la Ingesta Diaria Tolerable (TDI por sus siglas en inglés), el término tolerable significa más permisividad que aceptación, es un estimado de la cantidad de sustancia que puede estar presente en los alimentos o el agua y que no es adicionada intencionalmente, como en el caso de los contaminantes, que puede ser consumida a lo largo de la vida sin presentar un riesgo apreciable sobre la salud; y la Ingesta Semanal Tolerable (TWI) que es la ingesta máxima de una sustancia en el alimento, como nutrientes o contaminantes, que puede ser consumida semanalmente a lo largo de la vida sin riesgo de efectos adversos en salud. En cualquier día en particular, el consumo de un alimento que contenga un contaminante por encima de los niveles promedio puede exceder la cuota proporcional de la ingesta tolerable semanal o mensual (TI) (ILSI, 2000).

Los principios para establecer la ingesta tolerable son los mismos que para la ingesta aceptable descritos anteriormente. Para contaminantes, con frecuencia se pueden encontrar disponibles datos de estudios epidemiológicos que pueden servir de base para la derivación de ingestas tolerables. Si hay suficiente información para construir una curva dosis-respuesta, el POD puede definirse de los estudios epidemiológicos y se aplican los factores de incertidumbre (IPCS, 2009).

1.4. Caracterización del Riesgo

Algunas sustancias que son cancerígenas, pero no genotóxicas, pueden inducir tumores como efecto adverso secundario, desencadenado de un efecto tóxico inicial que tiene establecido un umbral. Para estas sustancias no existe riesgo de carcinogénesis al nivel de dosis que no produce el evento toxicológico primario. Por lo tanto, cuando existe evidencia adecuada que soporte un umbral para carcinogenicidad, se considera que se puede aplicar una aproximación basada en factores de incertidumbre para caracterizar el riesgo (Williams, 2001).

La caracterización del riesgo de carcinógenos no genotóxicos debe estar basada idealmente en la BMDL para carcinogenicidad o para el evento precursor relacionado con la inducción del tumor, aunque usualmente se usa el NOAEL. La robustez de esta evaluación va a depender de la calidad de los bioensayos en animales, o de los estudios en humanos cuando estén disponibles y sean relevantes y de la información disponible que respalde el mecanismo de acción (MOA). Cuando los datos de carcinogenicidad se obtienen de estudios en animales el MOA debe ser relevante en humanos. La BMDL se divide por un factor de incertidumbre apropiado para obtener un valor de referencia toxicológico basado en salud (dosis estimada para humanos sin riesgo apreciable para una exposición a lo largo



de la vida); ejemplos de estos valores de referencia toxicológica como la IDA, que se usa para aditivos y residuos de plaguicidas y medicamentos veterinarios en los alimentos y la TDI que se emplea para contaminantes ambientales (COCa, 2012).

La aplicación de un factor de incertidumbre genera una sola estimación de dosis (o exposición) en humanos que se considera sin riesgo apreciable a lo largo de la vida (metodología determinista). Usualmente cuando se calcula este valor no se establece un estimado numérico para el límite de confianza. Se considera que cualquier exposición por debajo de la IDA o la TDI no genera un riesgo apreciable. Las estimaciones por encima de estos niveles deben ser consideradas caso a caso, teniendo en cuenta la frecuencia, duración, la medida en que se excede las dosis de referencia, la naturaleza de la relación dosis-respuesta y otras formas de toxicidad relevantes para la sustancia (COCa, 2012).

Cuando no se ha establecido una IDA o TDI, el margen entre la exposición estimada y la BMDL para el efecto o el evento precursor derivados de bioensayos a largo plazo puede servir a los gestores de riesgo en la toma de decisiones para establecer políticas.

La ARfD de un compuesto se compara con la ingesta aguda estimada de un plaguicida en diferentes productos. Esto permite a los gestores de riesgo identificar cuales cultivos y plaguicidas necesitan la aplicación de acciones regulatorias para proteger la salud (IPCS, 2009). La metodología para estimar la ingesta aguda de plaguicidas se describe en otro documento metodológico.

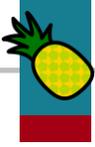
2. Dosis de Referencia en efectos Genotóxicos y Carcinogénicos

Hay un número limitado de efectos que teóricamente puede resultar en daño de una sola célula y en consecuencia el principio de precaución no permite asumir un umbral, aunque los procesos homeostáticos y los mecanismos de reparación puedan ser efectivos a bajas dosis, el potencial de causar cáncer mediante el daño del ADN es el principal ejemplo de efectos sin umbral. Para estos efectos genotóxicos y cancerígenos, el supuesto tradicional es que no puede ser determinada una dosis umbral, ya que puede existir algún grado de riesgo en cualquier nivel de exposición. Desde el punto de vista regulatorio se asume entonces que no hay un nivel seguro para estas sustancias y no se consideran adecuadas para la adición deliberada en alimentos (ILSI, 2000).

Existen también algunos casos especiales, productos químicos que pueden aumentar la incidencia de cáncer en animales de experimentación mediante mecanismos no genotóxicos, en este caso el establecimiento de un valor de orientación basado en la salud, como una Ingesta Semanal Tolerable Provisional (PTWI, por sus siglas en inglés), es apropiado. Otro caso interesante y que además es objeto de debate entre los científicos y los entes reguladores es el establecimiento de niveles tolerables para contaminantes que causan daño en el ADN y que no pueden ser completamente eliminados, como es el caso de las aflatoxinas (AFs) que son potentes cancerígenos en humanos (FAO/WHO, 2009).

La identificación de una sustancia carcinogénica se basa en la revisión de los datos de carcinogenicidad en animales y el conocimiento de los efectos en salud en los seres humanos provenientes de los reportes de caso y estudios epidemiológicos, otras fuentes de información como estudios *in vitro* o *in silico* pueden dar indicios del potencial carcinogénico. Estos datos deben ser evaluados en conjunto con información sobre genotoxicidad y otros tipos de efectos tóxicos que pueden tener importancia en la interpretación del MOA (mecanismo de acción). La evaluación del riesgo en humanos involucra la determinación de la relación dosis-respuesta, factores como la variación de la susceptibilidad inter-especies y el mecanismo de acción. Una vez se entiende la relación dosis-respuesta, puede ser posible definir un nivel de efecto para usar como punto de partida (POD) en la evaluación de riesgo (COC, 2012).

Los puntos de partida que han sido usados para estimar la potencia relativa de cancerígenos genotóxicos son T25, TD50 y la BMDL, siendo la dosis benchmark (BMD) la metodología más ampliamente utilizada. El umbral de preocupación toxicológica (TTC) es una aproximación que puede ayudar a identificar prioridades en la evaluación de carcinogenicidad, particularmente para sustancias químicas que no están sujetas a los esquemas de aprobación regulatoria (COC, 2012).



2.1. Evaluación Dosis-Respuesta

La evaluación dosis-respuesta estima el riesgo potencial en humanos a los niveles de exposición de interés. Esta evaluación tiene diferentes aplicaciones: estima el riesgo a diferentes niveles de exposición, estima la reducción del riesgo para la toma de decisiones ante diferentes alternativas, estima el riesgo remanente después de que una acción ha sido tomada, provee la información de riesgo que se necesita para análisis de costo-beneficio, compara el riesgo para diferentes sustancias químicas o efectos en salud, establece prioridades de investigación (EPA, 2005).

La evaluación dosis-respuesta se desarrolla generalmente de cada estudio que reporta de forma cuantitativa datos en la dosis y en la respuesta. En la curva dosis-respuesta se evalúa el riesgo potencial para los humanos en unos niveles de exposición particulares. La evaluación dosis-respuesta para un agente particular se basa en el mecanismo de acción potencial para cada tipo de tumor, debido a que una sustancia puede inducir múltiples tipos de tumores, la evaluación dosis-respuesta incluirá el análisis de todos los tipos de tumores, seguido de una síntesis general que incluye la caracterización estimada del riesgo, la potencia de cada modo de acción, la relevancia de cada tipo de tumor en los humanos, incluyendo las poblaciones susceptibles (EPA, 2005).

La EPA recomienda la extrapolación lineal desde un punto de partida en la curva dosis-respuesta de datos en animales. Se requiere hacer un ajuste de fondo cuando hay datos que sugieren una respuesta lineal por debajo del punto de partida, cuando la exposición en humanos es cercana a las dosis asociadas con un evento precursor de un proceso cancerígeno, la extrapolación puede estar aproximadamente en la parte lineal la curva dosis-respuesta. También recomiendan la extrapolación lineal cuando los datos son insuficientes para establecer un mecanismo de acción para el sitio del tumor y donde el componente lineal por debajo del punto de partida es plausible científicamente (EPA, 2005).

La evaluación de riesgo para cada tipo de tumor se realiza en dos pasos:

- Análisis de los datos para derivar el punto de partida (POD): es un análisis de la dosis y la respuesta en el rango de observación de los estudios experimentales o epidemiológicos. En ausencia de datos en humanos se emplean datos de estudios en animales, si hay información cuantitativa suficiente y un entendimiento adecuado del proceso de carcinogénesis se puede desarrollar un modelo con base biológica para relacionar la dosis y la respuesta, de otro modo, se aplica un modelo estándar que se ajuste a la curva de los datos. El modelo genera un POD cercano al límite inferior del rango observado, sin extrapolación significativa a las dosis más bajas.

- Extrapolación con exposiciones más bajas en la medida en que sea necesario: este paso considera lo que se conoce sobre el mecanismo de acción de la sustancia. La extrapolación se basa en un modelo biológico que debe estar soportado por datos sustanciales, de no ser así, se utiliza un modelo que sea consistente con el mecanismo de acción del agente, incluyendo aproximaciones que asumen la linealidad, la no linealidad de la relación dosis-respuesta, o ambas. Se deben describir las consideraciones especiales como las diferencias atribuibles a las poblaciones y a las etapas de la vida susceptibles (EPA, 2005).

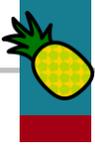
Para estimar el riesgo se prefieren datos de estudios epidemiológicos de calidad suficiente, cuando los estudios en animales son la base para el análisis, la estimación de la dosis equivalente en humanos debe emplear datos de toxicocinética para la escalada de dosis entre especies si hay disponibilidad de datos apropiados y adecuados, de no ser así, se aplicarán procedimientos por defecto: para dosis oral, con base en los conocimientos actuales, una opción es escalar las dosis en proporción al peso corporal elevado a la potencia de $\frac{3}{4}$. También se deben consultar las guías para realizar el ajuste de las dosis de adultos a niños (EPA, 2005).

La limitación de la aproximación de extrapolación lineal es que el riesgo de cáncer estimado tiene un grado de precisión que no refleja las incertidumbres sobre la forma de los órdenes de magnitud la curva dosis-respuesta que se encuentran por debajo de las dosis administradas a los animales en los estudios experimentales. Se recomienda utilizar la aproximación del margen de exposición en estos casos (COCa, 2012).

La evaluación dosis respuesta en general se completa para sustancias consideradas “carcinogénicas en humanos” y “probables carcinogénicos en humanos”, cuando hay evidencia sugestiva los datos usualmente no pueden soportar una evaluación dosis-respuesta. El cáncer es una colección de diferentes enfermedades que se desarrollan a través de cambios celulares y tisulares a lo largo del tiempo, los datos de la respuesta deben incluir los eventos precursores claves considerados parte del proceso de carcinogénesis, así como la incidencia de tumores para mejorar el análisis. A medida que los conocimientos en el modo de acción mejoran y nuevos tipos de datos se vuelven disponibles, la evaluación dosis-respuesta continuará evolucionado (EPA, 2005).

2.2. Caracterización del Riesgo

El enfoque más conservador para reducir el riesgo sería evitar completamente la exposición, sin embargo, en muchos casos esto no es posible, por lo tanto, una aproximación



ampliamente aceptada es asegurar que los niveles sean controlados, de manera que la exposición sea tan baja como sea razonablemente posible (ALARA en inglés As low as reasonably achievable (practicable)). Bajo circunstancias específicas, una aproximación pragmática podría ser el cálculo del nivel de riesgo mínimo, el cual ayuda a los gestores del riesgo en la toma de decisiones. La derivación de un nivel de riesgo mínimo para un compuesto cancerígeno genotóxico involucra la evaluación de todos los datos dosis-respuesta disponibles para carcinogenicidad con el objetivo de identificar el punto de partida. Se debe considerar, sin embargo, que para cualquier sustancia carcinogénica y genotóxica puede existir riesgo a cualquier nivel de exposición, por esto, idealmente, se debería aplicar el principio ALARA así se identifique o no un nivel de riesgo mínimo (COC, 2012).

Existen también otras alternativas a la aproximación ALARA:

- Cálculo del Margen de Exposición MOE entre el punto de partida (POD) en el rango de dosis observado para carcinogenicidad y la exposición estimada en humanos a través de la dieta.
- Extrapolación de una dosis baja con una dosis asociada a un estimado de riesgo definido.
- Extrapolación lineal del POD en el rango de dosis observado.

Para cada respuesta tumoral debe estimarse un POD a partir de los datos observados. El POD es una dosis estimada cercana al límite inferior del rango observado sin extrapolación significativa con las dosis más bajas. El POD es empleado como punto de partida de subsecuentes análisis y extrapolaciones, como extrapolaciones lineales, el POD se usa para calcular el factor de pendiente “slope factor” y para extrapolaciones no lineales se emplea en el cálculo de la dosis de referencia o la concentración de referencia. En la caracterización del riesgo el POD hace parte de la determinación del margen de exposición, con los ajustes apropiados, puede ser usado también como base para escalas de riesgo que comparan diferentes agentes o efectos adversos (EPA, 2005).

Para estimar el riesgo cuando hay vacíos de información:

- Con extrapolaciones lineales, el riesgo por debajo del POD se aproxima mediante la multiplicación del factor de pendiente por un factor de exposición. Por ejemplo, $\text{Riesgo} = \text{Factor de pendiente} \times \text{exposición}$. Para niveles de exposición por encima del POD, se utiliza el modelo dosis-respuesta en lugar de esta aproximación.
- Con extrapolaciones no lineales, el método de evaluación de riesgo depende del procedimiento usado. Si se ha determinado una función dosis-respuesta no lineal se

puede usar con la exposición esperada para determinar el riesgo. Si se ha calculado la ARfD el riesgo puede ser expresado como coeficiente de riesgo (HQ), definido como la razón del estimado de exposición y la dosis de referencia.

2.2.1. Margen de Exposición

Esta aproximación es una forma de priorizar y asesorar la comunicación del riesgo asociada con la exposición inevitable a sustancias químicas genotóxicas y cancerígenas, puede ser también una herramienta útil en la priorización de la gestión del riesgo. El margen de exposición (MOE) es el valor numérico, obtenido de la división del punto de partida en la curva dosis-respuesta por el estimado de la exposición a la sustancia (COCa, 2012).

$$MOE = POD \div Exposición$$

En este enfoque, el punto de partida se genera, usualmente, modelando los datos de la evaluación dosis-respuesta de los estudios de carcinogenicidad en animales. El punto de partida usado es generalmente el límite inferior de un intervalo de confianza del 95% de la BMD para el 10% de la respuesta sobre los niveles de control (BMDL10). Se puede emplear también el T25 como punto de partida, donde T25 es la dosis que provoca un incremento del 25% en la incidencia de un tumor específico por encima del nivel de base. Sin embargo, se prefiere el uso de la BMDL porque tiene en cuenta la incertidumbre relacionada con la forma de la curva dosis-respuesta dentro del rango de dosis observado en los estudios de carcinogenicidad (COC, 2012).

Para procesos carcinogénicos que tienen como modo de acción (MOA) reacciones con el ADN se considera que no hay umbral en la relación dosis respuesta, así como tampoco habría una dosis sin efecto potencial. Por consiguiente, no es científicamente válido identificar el NOAEL para sustancias cancerígenas y genotóxicas, en estos casos el MOE se calcula del POD en la evaluación dosis-respuesta de estudios experimentales o epidemiológicos. Se considera que la BMD es la mejor herramienta para derivar un POD adecuado (Benford et al. 2010).

Se han llevado a cabo algunos análisis de los datos para determinar la respuesta benchmark (BMD) apropiada para ser usada en el cálculo del MOE. La BMDL se consideró el punto de partida más pertinente, debido a que tiene en cuenta la incertidumbre en los datos. Se hace una salvedad, si hay un factor de más de 100 entre la BMD y la BMDL se considera que la incertidumbre es demasiado alta y no se utilizaría la BMDL. Se encontró además que, en la mayoría de los casos cuando se emplean datos de estudios en animales, utilizar una respuesta menor al 10% generaría una mayor incertidumbre en la BMDL y de forma similar



se afectaría el MOE resultante. Cuando no se cuente con datos suficientes para derivar la BMDL10 la opción que se prefiere es el uso de la T25 (Benford et al. 2010).

Las diferentes estimaciones de ingesta proporcionan diferente información, por ejemplo, la media y la mediana muestran un panorama general, mientras que los percentiles 90, 95 ó 97.5 generan información sobre los mayores consumidores. Como el MOE es simplemente una razón, se pueden estimar diferentes valores de MOE para diferentes percentiles de exposición. El MOE se considera la aproximación más práctica y científicamente acertada para generar recomendaciones, porque tiene en cuenta la exposición a través de la ingesta e información de la curva dosis-respuesta, como la potencia, sin hacer extrapolaciones más allá del rango dosis respuesta observado (Benford et al. 2010).

Se puede hacer la caracterización del riesgo con base en la magnitud del MOE, que da un indicio del grado de preocupación, sin ser una cuantificación exacta del riesgo. Entre mayor sea el MOE menor el riesgo potencial de la exposición a la sustancia bajo evaluación. Hay que tener en cuenta que MOE similares en diferentes sustancias químicas no necesariamente representan la misma magnitud de riesgo. Cuando se obtiene el MOE con base en el límite inferior de un intervalo de confianza del 95% de la dosis benchmark (BMDL10) a partir de estudios en animales, el JECFA y la EFSA han propuesto lo siguiente:

Tabla 1. Interpretación de la magnitud del MOE

Margen de Exposición	Interpretación
<10.000	Puede generar preocupación (May be a concern)
10.000-1.000.000	Improbable que genere preocupación (Unlikely to be a concern)
>1.000.000	Altamente improbable que genere preocupación (Highly unlikely to be a concern)

Nota: Cuando se emplean otros POD, como datos de estudios en humanos, el MOE se debe considerar caso a caso.

Fuente: Committee on Carcinogenicity, 2012.

El cálculo del MOE para sustancias que son genotóxicas y cancerígenas puede ser usado para respaldar la priorización de las acciones de gestión del riesgo y si el MOE es muy grande en la comunicación de un nivel bajo de preocupación para la salud en humanos. Los valores del MOE no son necesariamente comparables, debido a la incertidumbre en los datos de carcinogenicidad y en la evaluación de la exposición, que debe ser descrita en la evaluación de riesgo. Esta aproximación no debe ser usada para alterar el principio que

establece que el uso deliberado de sustancias que son genotóxicas y cancerígenas no está permitido.

Finalmente se presenta un marco de referencia con los puntos clave que deben tenerse en cuenta cuando se utiliza esta aproximación:

Tabla 2. Puntos clave que se deben tener en cuenta cuando se calcule el MOE

<p>1. Objetivo de la Evaluación</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Generación de acciones de gestión del riesgo para una sola sustancia ✓ Priorizar el uso de recursos para realizar acciones de gestión del riesgo para diferentes sustancias ✓ Comunicar el grado de preocupación en relación a un evento específico (contaminación o adulteración entre otros)
<p>2. Evaluar el modo de acción</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Peso de la evidencia de Genotoxicidad basado en alertas estructurales, estudios <i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>, extrapolación con compuestos relacionados. ✓ Aclarar supuestos si la evidencia es incompleta ✓ Información adicional de importancia en humanos si está disponible
<p>3. Selección de datos sobre el tumor</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Identificar todos los estudios disponibles sobre carcinogénesis por exposición por vía oral ✓ Considerar la especie más sensible y relevante (cepa y sexo) ✓ El estudio de la ingesta se llevó a cabo de acuerdo con guías apropiadas y muestra una relación dosis-respuesta lo suficientemente clara ✓ La dosis fue medida o estimada ✓ Es necesario realizar un ajuste de la dosis por ejemplo para estudios de corta duración ✓ Considerar si existe una diferencia significativa por sexo. Si no determinar si se modelan los datos combinados
<p>4. Modelación de la dosis-respuesta</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Selección del software ✓ Describir el modelo y las restricciones impuestas ✓ Modelar todos los sets de datos disponibles, incluyendo tumores relacionados con tratamiento individual y la proporción de animales con tumores relacionados con el tratamiento



5. Selección del POD

- ✓ Modelar el BMDL10 promedio o el BMDL10 más bajo de modelos que se ajusten al conjunto de datos
- ✓ Considerar la relevancia del efecto en humanos por exposición a través de la dieta
- ✓ Si el conjunto de datos con los valores más bajos no se considera relevante tomar como referencia el siguiente efecto más sensible
- ✓ Si los datos son inadecuados para hacer inferencias sobre la relación dosis-respuesta para los efectos más sensibles y relevantes no se puede derivar un POD

6. Evaluación de la exposición

- ✓ Debe estar relacionada con el objetivo de la evaluación
- ✓ Ubica los estimados de la exposición contexto con la naturaleza del peligro y los datos disponibles
- ✓ Provee información clara en relación con la población en la que se hicieron los estimados de la exposición
- ✓ Describe la naturaleza de la incertidumbre, provee un rango realista de estimados para comparar con el POD.

7. Presentación del MOE

- ✓ Presentar el valor numérico y una descripción de la incertidumbre del POD y de la evaluación de la exposición
- ✓ Discutir si el MOE se ajusta al propósito de la evaluación o debe ser refinado

Fuente: Tomado de Benford et al. 2010

2.2.2. Aproximación T25

Aunque se usa principalmente en estimados de potencia de cáncer, la aproximación T25 puede ser usada para derivar un POD. T25 se define como la dosis que produce un incremento del 25% en la incidencia de un tumor específico en comparación con el nivel de fondo dentro de la esperanza de vida para esa especie. Esta metodología no requiere métodos estadísticos elaborados. El T25 se determina por interpolación lineal simple y en algunos casos por extrapolación (COC, 2014).

Los datos usados para calcular el T25 deben proceder preferiblemente de bioensayos de carcinogenicidad a largo plazo. La estimación va a depender de la incidencia del tumor en un sitio específico a un solo nivel de dosis, los datos mínimos para calcular el valor de T25 son el nivel de significancia estadística de la incidencia en comparación con los controles. El T25 está influenciado por la calidad de la información del bioensayo y otros factores como el tiempo de aparición del primer tumor, la influencia de la toxicidad de la sustancia en la

inducción del tumor, la mortalidad y la metodología utilizada para hacer el análisis estadístico de los datos sobre el tumor (COC, 2014).

Se considera, sin embargo, que el uso de la metodología BMD para derivar el POD es superior a la T25. Sólo en el caso en que los datos sean inadecuados para estimar la BMD10, se recomienda el uso de la metodología T25. Sin embargo, puede que en estos casos los datos no sean apropiados para derivar ningún POD (COC, 2014).

2.2.3. Nivel de Riesgo Mínimo

Bajo ciertas circunstancias, como, por ejemplo, exposiciones muy bajas a contaminantes o impurezas genotóxicas y cancerígenas, se puede identificar un nivel de riesgo mínimo práctico. El nivel de riesgo mínimo es el estimado, por opinión de expertos, de la exposición diaria en humanos a una sustancia química, durante un tiempo determinado (usualmente toda la vida), que probablemente se asocia con un riesgo insignificante de efectos cancerígenos. La derivación del nivel de riesgo mínimo requiere la evaluación de todos los datos disponibles de la evaluación dosis-respuesta, para determinar el punto de partida e identificar un margen adecuado entre este punto y el nivel de exposición que resultaría en un riesgo mínimo. Se ha propuesto que un margen adecuado podría ser 10.000 (Gold et al, 2003).

El nivel de riesgo mínimo no niega la necesidad, cuando sea aplicable, de implementar esfuerzos para reducir la exposición, incluso cuando los niveles se encuentran por debajo del nivel mínimo de riesgo. Esto debido a que para las sustancias genotóxicas y carcinogénicas existe todavía un riesgo (aunque este pueda ser muy pequeño) a cualquier nivel de exposición, por esto, en las políticas adoptadas por los gestores de riesgo para controlar los niveles se debe aplicar que la exposición sea tan baja como sea razonablemente posible. De hecho, esta recomendación aplica así se haya o no estimado un nivel de riesgo mínimo para un contaminante o impureza genotóxica o carcinogénica (COCa, 2012).

El nivel de riesgo mínimo se determina sólo para contaminantes en los que la exposición es inevitable o para impurezas en los materiales, productos y formulaciones que están sujetos a los esquemas de evaluación reglamentaria.

En conclusión, para sustancias cancerígenas que no tienen umbral para el efecto, la exposición debe ser tan baja como sea razonablemente posible (ALARP). Adicionalmente, se recomienda adoptar la aproximación del margen de exposición como herramienta para indicar el nivel de preocupación en situaciones donde la exposición es inevitable. Cuando se requiera establecer un valor máximo para un contaminante genotóxico la identificación



del nivel de riesgo mínimo puede ser apropiada. Para la evaluación de riesgo de sustancia químicas en las que se ha establecido un umbral, se podría usar la aproximación de factores de incertidumbre (COCa, 2012).

3. Dosis de Referencia Experimental BMD (Benchmark Dose)

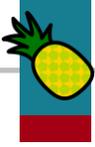
La metodología de dosis benchmark (BMD) fue inicialmente introducida por Crump en el año 1984 como una alternativa al uso del NOAEL y LOAEL en la evaluación dosis-respuesta, para establecer dosis de referencia toxicológicas como las dosis de referencia (RfDs), concentraciones de referencia (RfCs) e ingestas admisibles (IDAs) para efectos en los que se asume que existe un umbral (Crump, 1984). Posteriormente la EFSA y la OMS recomendaron esta aproximación para derivar el punto de partida (POD) denominado también punto de referencia en las evaluaciones de riesgo para todos los efectos, incluyendo carcinogénesis y genotoxicidad (COC, 2014). Sin embargo, con el tiempo la dicotomía entre efectos cancerígenos y no cancerígenos se ha remplazado por consideraciones sobre el modo de acción y si los efectos evaluados son por probabilidad lineales o no lineales a bajas dosis (EPA, 2012).

La aproximación benchmark tiene varias ventajas, entre ellas, reducir la incertidumbre asociada a las imprecisiones del NOAEL, permite cuantificar la incertidumbre en los datos dosis-respuesta, utilizando modelos estadísticos, utiliza de forma mucho más completa la curva dosis-respuesta, el cálculo de la dosis es más preciso y produce incrementos pequeños en el nivel de todas las respuestas. Esta dosis “benchmark” puede ser utilizada como una alternativa al NOAEL y al Nivel de mínimo efecto adverso observable (LOAEL) para derivar la IDA, seguido de la aplicación de los factores de seguridad. Como el NOAEL, la dosis benchmark (BMD) sustituye la dosis umbral, pero depende menos en la selección de la dosis y se espera que esté más estrechamente relacionada con el umbral que el NOAEL (ILSI, 2000).

El NOAEL se toma algunas veces como un punto importante para describir la relación dosis-respuesta en un estudio porque se presume la correspondencia entre el NOAEL y el umbral (nivel real sin efecto). Sin embargo, el NOAEL, que generalmente se define por la ausencia de significancia estadística en el efecto, es realmente una consecuencia del hecho que cualquier estudio finito tiene un límite de detección inherente. De esta forma, el NOAEL tiene en la realidad poca utilidad práctica para describir la relación dosis-respuesta toxicológica, o representa el umbral biológico y no se puede establecer que niveles bajos de exposición son necesariamente libres de riesgo (EPA, 2012).

A continuación, se presentan algunas otras limitaciones del modelo NOAEL/LOAEL:

- La aproximación NOAEL/LOAEL es altamente dependiente en la selección de la dosis en el estudio.



- Es altamente dependiente del tamaño de la muestra. El NOAEL de una sustancia tiende a ser mayor en estudios con menor número de animales por grupo de dosis.
- No tiene en cuenta la variabilidad e incertidumbre de los resultados de los estudios experimentales.
- El NOAEL y LOAEL no corresponde a niveles de respuesta consistentes para comparaciones entre estudios, sustancias y respuesta o efectos.
- Esta aproximación no tiene en cuenta otra información del estudio experimental como la forma de la curva dosis-respuesta.
- El LOAEL no puede ser usado para derivar un NOAEL cuando el NOAEL no existe en el estudio.

En un esfuerzo por abordar estas limitaciones se desarrolló la dosis benchmark, como alternativa a la aproximación NOAEL/LOAEL; sin embargo, no todos los conjuntos de datos son susceptibles de modelación BMD. La preferencia en la selección de modelos adecuados para la elaboración de la curva dosis-respuesta se basa en elegir el que sea consistente con los procesos biológicos relevantes o las co-variables de la respuesta, como, por ejemplo, el tiempo de respuesta. Debido a que la aplicación del modelo BMD y la interpretación de los resultados pueden ser técnicamente desafiantes, se recomienda que se realice en colaboración con expertos en los procesos estadísticos de este tipo de análisis (EPA, 2012).

La BMDx se define como la dosis que corresponde a un cambio específico (x%) en la respuesta, en comparación con la respuesta modelada en los animales control, la respuesta benchmark (BMR). La BMD se determina ajustando una curva matemática a los datos de dosis-respuesta en el rango de respuestas observadas de estudios en animales o en humanos (si están disponibles), empleando una selección de diferentes modelos. Para cada modelo estadístico de curva dosis-respuesta se obtiene un valor BMD. Para tener en cuenta la incertidumbre experimental, el límite inferior de confianza del 95% en la dosis benchmark (BMDLx) se usa como POD (COC, 2014).

Se aplica un modelo matemático a los datos experimentales para elaborar la curva dosis-respuesta que mejor se ajuste a los puntos de referencia individuales. En el cálculo estadístico se asignan límites a cada lado de la curva dentro de los cuales hay un 95% de confianza de que la curva va a ocurrir. La utilización de un nivel de confianza del 95% tiene la ventaja de que toma en cuenta la calidad del dato, es decir, un estudio con pocos animales por grupo de dosis o una relación dosis-respuesta pobre va a generar un límite de confianza más amplio que un buen estudio. El límite de confianza superior se emplea como una

aproximación conservadora que permite la incertidumbre de los datos experimentales. De la curva dosis-respuesta, la dosis que coincide con el límite de confianza superior para el 10% de la respuesta se define como la dosis benchmark (ILSI, 2000).

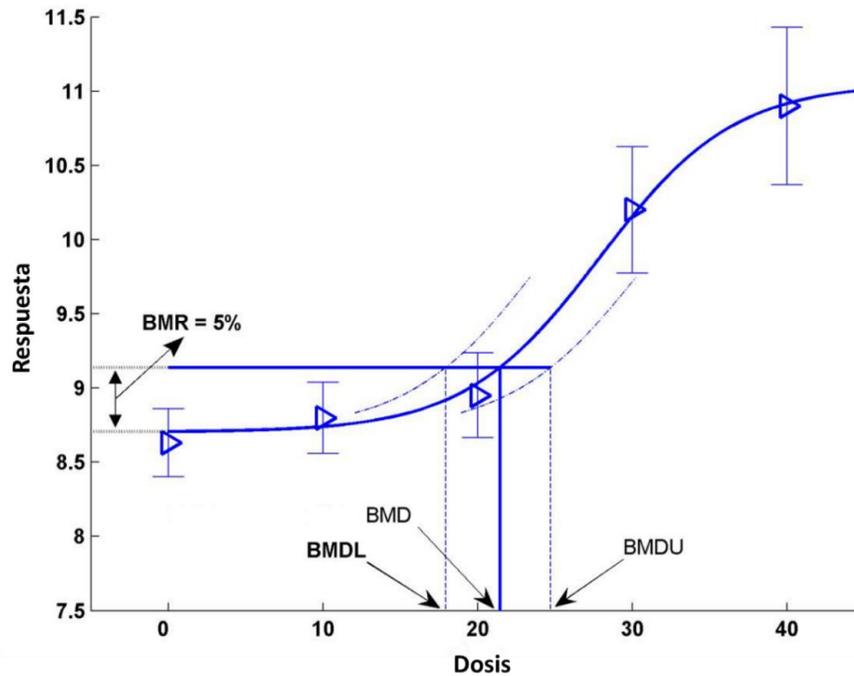


Figura 2. Modelo de Curva Dosis-Respuesta.

Fuente: Tomado de EFSA, 2009.

La media de las respuestas observadas (rombos) está trazadas con los intervalos de confianza. La curva sólida es el modelo dosis-respuesta ajustado. En esta curva se determina la BMD (punto estimado) que se define como la dosis que corresponde a cambios pequeños pero medibles en la respuesta, denominada respuesta benchmark (BMR). Las curvas discontinuas representan el límite superior e inferior del nivel de confianza del 95% para el tamaño del efecto como función de la dosis. Las intersecciones con la línea horizontal son el límite inferior y superior de la BMD, denominadas BMDL y BMDU respectivamente. La BMR se define como el cambio en relación con la respuesta de fondo predicha por el modelo ajustado. En el gráfico la BMD corresponde a un cambio del 5% con respecto al fondo (BMR=5%).



3.1. Identificación del peligro: selección del efecto crítico potencial

Los estudios de toxicidad están diseñados para identificar efectos adversos producidos por una sustancia y para definir la relación dosis-respuesta para los efectos identificados. Aunque en algunos casos hay disponibles datos en humanos, en la mayoría de los casos la evaluación de riesgo se basa en estudios en animales. Un componente importante es considerar la dependencia de la dosis de los efectos observados. Tradicionalmente, esto se realiza mediante inspección visual, herramientas estadísticas y modelación de la dosis-respuesta (EFSA, 2009).

Antes de analizar un conjunto de datos utilizando la metodología BMD, es necesario evaluar todos los estudios disponibles y los efectos críticos potenciales, asegurando que los datos cumplan con los criterios mínimos. La selección del efecto crítico no se basa solamente en procedimientos estadísticos, se deben tener en cuenta también argumentos toxicológicos, haciendo una evaluación crítica de los datos de respuesta y de la relevancia del efecto en la salud humana (EFSA, 2009).

El resultado de este primer paso es la identificación de efectos potenciales que serían analizados con mayor detalle y descritos en las siguientes secciones.

3.2. Uso de los datos Dosis-Respuesta en la Caracterización del Peligro

El objetivo es identificar la dosis sin efectos adversos apreciables en los estudios en animales bajo condiciones experimentales. El POD de los estudios de toxicidad es utilizado para calcular el nivel de ingesta en humanos en el que se espera que no se presenten efectos adversos apreciables, tomando en cuenta la incertidumbre y la variabilidad, las características subóptimas de los estudios y los datos faltantes.

Las variaciones en la experimentación y biológicas afectan la medición de la respuesta, en consecuencia, la respuesta promedio en cada nivel de dosis va a incluir un error estadístico asociado con los datos.

Los pasos esenciales involucrados en la identificación del BMDL para un estudio en particular son:

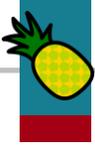
- Especificar un nivel de respuesta bajo pero medible, por ejemplo, un aumento o disminución del 5% o 10% en la respuesta comparado con el ruido o respuesta de fondo, esto es lo que denomina BMR.

- Ajustar un conjunto de modelos dosis-respuesta y calcular el BMD y BMDL para los modelos que describen los datos de acuerdo con criterios estadísticos, lo que va a resultar en un rango de valores de BMDL para cada efecto adverso o desenlace.
- Seleccionar el BMDL para cada efecto crítico potencial.
- Establecer un BMDL general para el estudio, por ejemplo, el BMDL para el efecto crítico del estudio.

Esta aproximación puede ser aplicada para cada desenlace medido en los estudios relevantes. Luego se selecciona el efecto crítico en forma análoga a como se hace con la metodología NOAEL, es decir, el efecto que resulte en el BMDL más bajo, pero teniendo en cuenta también argumentos toxicológicos (EFSA, 2009).

3.3. Caracterización del Riesgo

Una vez que se ha empleado la metodología BMD para derivar un punto de referencia o POD, el siguiente paso para la caracterización del riesgo es establecer un margen de exposición MOE para sustancias carcinogénicas y genotóxicas o dosis de referencia toxicológica basadas en salud como la IDA para residuos de medicamentos veterinarios, residuos de plaguicidas y aditivos, ingestas diarias tolerables (TDI) o ingesta semanal tolerable (TWI) para contaminantes. Cuando estos valores se calculan con base en la BMD, teniendo en cuenta todos los datos de la curva dosis-respuesta, se considera que se tiene una base más robusta para cuantificar el riesgo en situaciones en las que se excede la dosis de referencia, de esta forma, la gestión y la comunicación del riesgo es más efectiva (EFSA, 2009).



4. Umbral de Preocupación Toxicológica (TTC)

El uso de valores de exposición de minimis, como medio para identificar sustancias de baja preocupación, fue propuesto inicialmente por Frawley en 1967 y posteriormente desarrollado por la FDA para ser aplicado a sustancias sin alerta estructural para genotoxicidad o carcinogenicidad, en el contexto de regular materiales en contacto con alimentos, que tuvieran bajas exposiciones y estuvieran relacionados con una concentración en la dieta que llevara a una ingesta de 1.5 μg persona día, equivalente a 0.0025 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal por día, este umbral de regulación (TOR) se derivó por extrapolación de bajas dosis de datos de carcinogenicidad de estudios en animales. Esta aproximación llevó al desarrollo de valores de TTC para efectos no cancerígenos (COC, 2014). En 1995 el JECFA consideró el uso de elementos de la aproximación TTC para evaluar saborizantes, estas sustancias usualmente se consideran en grupos relacionados estructuralmente. La principal modificación del JECFA a la metodología genérica fue considerar el metabolismo de forma más explícita, específicamente si puede predecirse que la sustancia se metaboliza a un producto inocuo. La EFSA realizó una ligera modificación al procedimiento del JECFA y lo emplea desde el 2004, también, para la evaluación de saborizantes (EFSA, 2012).

Debido al avance en los métodos analíticos, más sustancias químicas son encontradas en el medio ambiente, incluyendo el agua y los alimentos. Para realizar una evaluación de la exposición de estas sustancias, cuando no hay suficientes datos específicos sobre la caracterización química y para priorizar aquellos agentes que tengan más probabilidad de causar efectos adversos, es necesario aplicar otros métodos para estimar el impacto potencial en la salud de forma que se puedan tomar decisiones de gestión de riesgo informadas (EFSA, 2016).

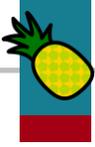
El umbral de preocupación toxicológica (TTC) es una herramienta de valoración que ha sido desarrollada para evaluar sustancias de toxicidad desconocida presentes en los alimentos en bajas concentraciones y para las que la información toxicológica es escasa o inexistente. Para la aplicación de esta aproximación se requiere sólo el conocimiento de la estructura química de la sustancia de interés e información sobre exposición en humanos. En general, esta aproximación integra datos de cientos de sustancias sobre la estructura química, metabolismo y toxicidad, para la evaluación de agentes que no han sido previamente considerados en concordancia con los principios establecidos de evaluación de riesgos. Ha sido desarrollado para ser una aproximación pragmática y científicamente validada para la evaluación de peligros químicos (EFSA, 2016).

El TTC utiliza valores de umbral genéricos para exposición en humanos acordes con la estructura química y la probabilidad de toxicidad. La aproximación no involucra relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR) para respuestas específicas, sino, más bien, se basa en la distribución de potencias para sustancias químicas que comparten similares características estructurales con el químico que está siendo evaluado. Existe un rango de umbrales en humanos que han sido desarrollados con base en datos de estudios toxicológicos en animales que cubren tanto efectos cancerígenos como no cancerígenos. Esta aproximación puede ser usada para sustancias con o sin alerta estructural para genotoxicidad (EFSA, 2012).

Los valores TTC se derivan utilizando una aproximación probabilística, de esta forma, en exposiciones por debajo de los umbrales genéricos para humanos la probabilidad de efectos adversos para la salud es considerada muy baja. Esta aproximación tiene el potencial de ser empleada para evaluación de riesgo cualitativo y para el establecimiento de prioridades en cuanto a vacíos de información y acciones de gestión de riesgos. El uso de esta aproximación disminuiría el uso de animales de experimentación (Kroes et al., 2004).

A continuación, se presentan las situaciones en las que se recomienda el uso de esta aproximación, según lo establecido por la EFSA:

- Se aplica para sustancias que tienen una estructura química conocida, pero con pocos datos toxicológicos o información no relevante. En este caso el TTC es una herramienta de screening, ya sea para establecer prioridades o para decidir si la exposición a una sustancia es tan baja que la probabilidad de que se presente un efecto adverso es mínima y no requiere más información.
- Para la aplicación de esta metodología es necesario tener una evaluación de la exposición que incluya escenarios de alta exposición.
- La clasificación de las sustancias de acuerdo con su estructura química es un componente esencial de esta metodología. El esquema de clasificación más utilizado fue el descrito por Cramer en 1976 (Cramer et al., 1976).
- La aproximación del TTC puede ser usada en cualquier área de la evaluación de riesgo cuando la exposición en humanos es baja, se puede emplear para evaluar impurezas, metabolitos, productos de reacción en aditivos alimentarios y contaminantes, traza en agua y alimentos, siempre y cuando pueda realizarse una evaluación de la exposición y haya pocos o ningún dato toxicológico.



- Los rangos de estructuras en las dos principales bases de datos empleadas por la aproximación son ampliamente representativos de las sustancias químicas en el mundo, en términos de características estructurales y propiedades fisicoquímicas. Esto genera confianza en la utilidad general de la metodología TTC.
- Esta aproximación no debe ser usada para las siguientes categorías de sustancias: cancerígenos potentes (como aflatoxinas o compuestos azoxi o N-nitroso, bencidinas, hidracinas), sustancias inorgánicas, metales, proteínas, esteroides, sustancias que tienen la capacidad de bioacumularse, nanomateriales, sustancias radioactivas, mezclas de sustancias que contienen estructuras químicas desconocidas.

4.1. Cálculo del Umbral de Exposición en Humanos para Cáncer

La FDA derivó un valor umbral de exposición en humanos para ser aplicado a sustancias que no tienen una alerta estructural para genotoxicidad/carcinogenicidad, pero con el propósito de proteger contra todos los tipos de toxicidad, incluyendo carcinogenicidad. El valor del umbral fue derivado mediante un modelo matemático de riesgo de bioensayos en animales en cerca de 500 cancerígenos conocidos genotóxicos y no genotóxicos con base en el potencial de carcinogenicidad. El potencial de carcinogenicidad se expresó como TD50s y se calcularon dosis virtualmente seguras (VSD) por extrapolación lineal, asumiendo que el riesgo en animales es representativo del mismo en humanos. La VSD es un estimado de la exposición a un cancerígeno a través de la ingesta que podría dar lugar a menos de un millón de riesgo de cáncer a lo largo de la vida. De la distribución de VSD se obtuvo una concentración de 0.5 µg/kg (0.5 ppb) para ser usado como Umbral de Regulación (TOR). Esto se puede expresar también como 1.5 µg /persona/día, asumiendo que se consumen de 3 kg de alimentos y bebidas por persona por día (FDA, 2005). El valor de 1.5 µg/persona al día tiene importancia histórica. Sin embargo, tiene poca aplicabilidad práctica en la metodología TTC.

Más adelante se hizo una refinación del umbral de exposición para el efecto cáncer, calculando un valor más bajo para sustancias que tuvieran una alerta estructural para potencial genotoxicidad (Kroes et al., 2004).

Tabla 3. Umbral de exposición en humanos para cancerígenos

Estructuras	Valor del Umbral de Exposición en Humanos (µg/persona/día)	Referencia
Sin alerta estructural para genotoxicidad	1.5	FDA, 1995
Con alerta estructural para genotoxicidad	0.15	Kroes et al., 2004

Fuente: EFSA, 2012.

El valor de 0.15 µg/persona por día para sustancias con alerta estructural de genotoxicidad es derivado de una extensa base de datos de potencia de carcinogenicidad (CPDB) desarrollada por Gold y colaboradores. El valor del umbral se obtiene de la extrapolación a partir del TD50, que representa el 50% de la respuesta de aparición de tumores en los estudios en animales. Sin embargo, no hay un consenso sobre el uso de la extrapolación lineal de bioensayos de cáncer en animales para predecir el riesgo en humanos (EFSA, 2012).

No se recomienda la extrapolación de datos de tumores en animales observados a altas dosis, utilizando modelos matemáticos, con el objetivo de estimar el riesgo en humanos por exposición baja a sustancias genotóxicas y carcinogénicas. En este caso se recomienda utilizar una aproximación diferente como el MOE, que utiliza la exposición y la potencia de cáncer, no requiere extrapolación por fuera del rango observable en los bioensayos en animales y puede también ser usado para establecer prioridades. Un MOE igual o mayor a 10.000 que esté basado en una BMDL10 proveniente de estudios en animales sería de baja preocupación desde el punto de vista de la salud pública (EFSA, 2005).

Es posible hacer una comparación aproximada entre el MOE y el enfoque TTC. Para una sustancia con un MOE de 10.000 basado en una incidencia del 10% y asumiendo que la dosis es lineal, la exposición en humanos correspondería al límite superior del riesgo de menos de 1 en 100.000 (riesgo 10⁻⁵). El valor TTC de 0.15 µg/día se deriva por extrapolación lineal a 1 en un millón (riesgo 10⁻⁶). De esta forma, se esperaría que sustancias genotóxicas y cancerígenas con una exposición por debajo del valor del TTC tengan un MOE igual o mayor a 100.000 (EFSA, 2012).

El valor del TTC de 0.15 µg/persona día para sustancias con alerta estructural de genotoxicidad se deriva de la extensa Base de Datos de Potencia de Carcinogenicidad (CPDB), que contiene datos sobre los cancerígenos más potentes que se conocen. Sin embargo, se han identificado 86 de estas sustancias con un VSD por debajo de 0.15 µg/persona día, las características estructurales se identificaron como: tipo Aflatoxina (5 sustancias), azoxi (4 sustancias), moléculas N-nitroso (47 sustancias), estas sustancias



deben ser excluidas de la aproximación TTC cuando se usa el valor de umbral convencional. Adicionalmente a estos grupos estructurales quedan otras 30 sustancias que representan el 4% de la base (Kroes et al., 2004). Se considera que la probabilidad de cualquier riesgo apreciable de cáncer para humanos por exposición a sustancias no evaluadas que se encuentren por debajo de $0.15 \mu\text{g}/\text{persona día}$ está entre 0 y 4%. Finalmente, la frecuencia de mutaciones asociada a un valor de $0.15 \mu\text{g}/\text{día}$ puede ser calculada por extrapolación lineal, los datos muestran que el incremento en el riesgo es extremadamente bajo o insignificante, lo que sugiere que es probable que este valor de TTC proteja contra efectos heredables, así como contra cáncer (EFSA, 2012).

4.2. Cálculo del Umbral de Exposición en Humanos para efectos diferentes a Cáncer

Se propusieron umbrales genéricos para exposiciones aceptables en humanos con base en extrapolaciones de la relación entre la estructura química y la toxicidad. Munro y colaboradores lograron establecer una base de datos de referencia que contiene 613 sustancias químicas que tenían datos disponibles de toxicidad oral para una variedad de efectos diferentes a cáncer de estudios de toxicidad subcrónica, crónica, reproductiva y del desarrollo, cerca de 2941 NOAEL estaban disponibles en estos estudios. Ninguno de los NOAEL estuvo basado en efectos cardiovasculares o inmunológicos (Munro et al, 1996).

Las sustancias químicas de la base de datos se dividieron en tres clases estructurales con base en un árbol de decisión desarrollado anteriormente. La clase Cramer I son sustancias de estructura química simple con un metabolismo eficiente lo que sugiere baja toxicidad; la clase Cramer III son sustancias con estructuras químicas que sugieren toxicidad significativa o no permiten una presunción inicial de seguridad; y la clase Cramer II son sustancias con estructuras que son menos inocuas que la Clase I, pero sin características que sugieran toxicidad significativa. Los valores de umbral en humanos se derivaron tomando el valor del percentil 5 de la distribución del NOAEL, para cada una de las sustancias, multiplicado por 60 para convertir los valores expresados en mg/kg de peso corporal a $\text{mg}/\text{persona al día}$ y luego dividiendo por un factor de 100 para asegurar un margen de seguridad. Este procedimiento resultó en valores de 1800 , 540 y $90 \mu\text{g}/\text{persona día}$ para las clases Cramer I, Cramer II y Cramer III respectivamente (EFSA, 2012).

Tabla 4. Umbral de exposición en humanos para datos de toxicología

Clase Estructural de Cramer	Percentil 5 NOAEL (mg/kg de peso día)	Umbral de Exposición en Humanos (mg/persona día)
I (137 sustancias)	3.0	1.8
II (28 sustancias)	0.91	0.54
III (448 sustancias)	0.15	0.09

Clases Estructurales de Sustancias Químicas en la aproximación TTC Propuestas por Cramer	
Clase I	Sustancias con estructura química simple con metabolismo eficiente, lo que sugiere baja toxicidad. Constituyentes normales del cuerpo (excluyendo las hormonas) carbohidratos, terpenos, sulfonato o sulfamato sin aminas primarias.
Clase II	Sustancias que tienen una estructura que es menos inocua que la clase I, pero no contienen características sugestivas de toxicidad como aquellas en clase III. Componentes comunes de los alimentos, sustancias sin grupos funcionales diferentes a alcohol, aldehídos, cetonas de cadena lateral, ácidos, ésteres, sodio, potasio, calcio, sulfonato o sulfamato.
Clase III	Sustancias con estructura química que no permite una presunción inicial de seguridad o incluso que pueden sugerir toxicidad significativa o tener grupos funcionales reactivos. Estructuras que contienen elementos diferentes a carbón, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno o sulfuro divalente, ciertos derivados del benceno, sustancias heterocíclicas, alifáticas o sustancias que contienen más de tres grupos funcionales.

Fuente: EFSA, 2012.

Se ha generado controversia en el caso de algunos efectos potencialmente sensibles: inmunotoxicidad, efectos en el desarrollo, neurotoxicidad, actividad endocrina y alergenicidad. Estos efectos fueron considerados en la medida de lo posible mediante el análisis de bases de datos seleccionadas para estos efectos. Para efectos toxicológicos en el desarrollo, la distribución del NOAEL dividida por 100 fue cerca de 3 órdenes de magnitud por encima de la distribución de 1 en 1 millón en el límite superior de los estimados de cáncer a lo largo de la vida derivados de datos de carcinogenicidad, la toxicidad en el desarrollo no fue más sensible que otros efectos diferentes a cáncer, lo que indica que no es necesario un TTC específico (EFSA, 2016).

Para los efectos de neurotoxicidad relacionados con la inhibición de la colinesterasa se propuso un valor de TTC para organofosforados y carbamatos de 18 µg/persona día (correspondiente a 0.0003 mg/kg peso corporal día). La EFSA realizó un análisis de las dosis de referencia toxicológica IDA y ARfD para plaguicidas con un LMR establecido, y concluyó que el valor de 18 µg/persona día es válido para inhibidores de colinesterasa y puede ser aplicado tanto a organofosforados como carbamatos, incluyendo efectos críticos en el



cerebro por la acetil colinesterasa (AChE), esto debido a que el concepto de TTC está basado en una aproximación probabilística. Este es el único caso de evaluación de efectos agudos en la aproximación TTC (EFSA, 1012).

En el caso de las sustancias que tienen actividad endocrina, pero la importancia de este efecto no es clara en los seres humanos, deben ser consideradas caso a caso para decidir si se aplica la aproximación TTC o no. Si existe información que demuestre que la sustancia tiene un efecto adverso sobre el sistema endocrino, entonces la evaluación de riesgo debe basarse en los datos disponibles. La aproximación TTC se aplica cuando no existe conocimiento a priori sobre la actividad endocrina de la sustancia. Sin embargo, los esteroides son una excepción a esta recomendación, pues tienen una conocida y potente actividad endocrina que lleva a efectos adversos, entre ellos, cáncer, por lo tanto, se considera que a las estructuras de esteroides sin evaluar no se les debe aplicar la aproximación TTC (EFSA, 2012).

Para alergias, reacciones de hipersensibilidad e intolerancias no hay base de datos disponibles para establecer valores de TTC y por ende estos efectos no se incluyen en esta aproximación (EFSA, 2016).

Sustancias químicas con exposiciones por encima del valor TTC no están necesariamente asociadas con alguna preocupación, en cambio, son identificadas para una evaluación ulterior. La evaluación puede llevar a la decisión que para algunas sustancias sea necesario un trabajo de mitigación del riesgo, mientras que para otras la exposición será tan insignificante, que la probabilidad de efectos adversos en salud es suficientemente baja y no se requieren datos adicionales (EFSA, 2016).

Kroes y colaboradores diseñaron un árbol de decisiones paso a paso que incorpora varios valores TTC en orden decreciente de preocupación y en orden creciente en términos de valores numéricos, inicialmente, incluyeron una categoría de exclusión para ciertos tipos de sustancias químicas que no deben ser evaluadas por la aproximación TTC. Posteriormente, se diseñó un software para el árbol de decisiones llamado Toxtree que facilitaría la aplicación consistente y menos subjetiva del esquema Cramer. La aplicación se puede descargar gratuitamente en: <http://toxtree.sourceforge.net/>. El software incluye 5 reglas extra para asignar las sustancias a las diferentes categorías. Adicionalmente, incorpora las reglas Benigni/Bossa para la identificación de algunos cancerígenos genotóxicos y requiere que el usuario introduzca la exposición diaria estimada (EFSA, 20016).

4.3. Sustancias no apropiadas para la aplicación de la metodología TTC

- Se recomienda que esta aproximación no sea aplicada para evaluar cancerígenos de alta potencia como compuestos N-nitroso y estructuras tipo aflatoxina. Esto debido a que el límite superior para riesgo de cáncer a lo largo de la vida es mayor a 1 en un millón, incluso a exposiciones de 0.15 µg/persona día (Kroes et al., 2004).
- Metales: hay gran cantidad de información en animales y en humanos sobre la toxicidad de metales pesados como el arsénico, cadmio, plomo y mercurio. Adicionalmente, Algunos metales como el cadmio y el plomo se bioacumulan. Por otro lado, los metales no están representados en la clasificación de Cramer ni en la base de datos de Munro. (Kroes et al., 2004). Sin embargo, en el caso de las sales orgánicas que tienen un ion metálico la aproximación TTC puede ser aplicada al ion orgánico (EFSA, 2012).
- Polímeros: deben ser excluidos porque no están estructuralmente definidos en términos de la longitud de cadena, peso molecular y enlaces cruzados (Cramer et al., 1978). Sin embargo, la EFSA usa datos toxicológicos de los monómeros para respaldar la evaluación de polímeros y oligómeros (EFSA, 2012).
- Sustancias con vida media extremadamente larga con capacidad de bioacumularse como el 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) y sus análogos estructurales deben ser excluidos (Kroes et al., 2004).
- Las sustancias inorgánicas también deben excluirse, debido a que no se encuentran representadas en el árbol de decisión según la clase estructural (Cramer et al., 1978).
- Proteínas: se decidió excluirlas debido a la posibilidad de alergenicidad a bajas exposiciones. Se considera necesario establecer un TTC para alergenicidad una vez se encuentre disponible suficiente información sobre la respuesta a bajas dosis. Adicionalmente, las proteínas no fueron incluidas en la base de datos de Munro, aunque son componentes comunes de los alimentos que podrían ser clasificados en la Clase I o Clase II de Cramer (Kroes et al., 2004).
- Sustancias con actividad endocrina: se dejan por fuera debido a que existe un número importante de incertidumbre alrededor de los efectos a bajas dosis para sustancias con actividad endocrina. Esta aproximación no debe ser aplicada a sustancias conocidas por tener este tipo de actividad (Kroes et al., 2004).



- **Nanomateriales:** en forma natural o sintética, debido a que no hay suficiente información toxicológica disponible para determinar si tienen toxicidad directamente atribuible a la nanoforma a exposiciones por debajo del TTC (EFSA, 2011).
- **Sustancias radioactivas:** son excluidas porque inducen efectos adversos por mecanismos relacionados con sus propiedades radioactivas (mecanismos físicos), que son diferentes a los efectos adversos que pueden surgir de las propiedades químicas de una sustancia (EFSA, 2012).
- **Mezclas:** Se puede aplicar esta aproximación a mezclas que contienen solamente sustancias con estructuras químicas estrechamente relacionadas, pero se debe asumir la adición de dosis y la exposición debe ser sumada. Sin embargo, hay escasa evaluación sobre la aplicabilidad de la aproximación TTC a mezclas que contengan sustancias de estructuras desconocidas (EFSA, 2012).

4.4. Expresión de los valores TTC con base en el peso corporal

Se ha cuestionado si los valores de TTC protegen adecuadamente a lactantes y niños, debido a que tienen un peso corporal más bajo, una ingesta más elevada en términos de kg de peso corporal y otros hábitos y preferencias alimentarias. Es importante considerar todos estos factores cuando se hagan estimados de exposición. Adicionalmente, los lactantes y niños se consideran potencialmente más susceptibles a algunos efectos toxicológicos que los adultos (EFSA, 2012).

Teniendo en cuenta que los pesos corporales bajos de lactantes y niños pueden tener un impacto significativo en la exposición sistémica a una sustancia presente en los alimentos, se considera que los valores de TTC deberían convertirse a $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal para realizar comparaciones con estimados de exposición para diferentes grupos de edad. Un peso corporal de 60 kg se ha empleado como divisor, debido a que es el peso utilizado para derivar el valor de TTC en humanos.

Tabla 5. Conversión del valor de TTC a $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal día

Tipo de valor de TTC	TTC en $\mu\text{g}/\text{persona día}$	Valor TTC en $\mu\text{g}/\text{kg peso corporal día}$
Con alerta estructural de genotoxicidad	0.15	0.0025
Organofosforados y carbamatos	18	0.3
Cramer Clase I	90	1.5
Cramer Clase II	540	9.0

Cramer Clase III	1800	30
------------------	------	----

Fuente: EFSA, 2016

La aproximación TTC es una herramienta importante para los evaluadores y gestores del riesgo. Sin embargo, hay que tener en cuenta que es una herramienta de screening basada en probabilidad y por tanto no ofrece una certidumbre del 100%. La derivación de varios de los valores está basada en la frecuencia de distribución y los valores que han sido propuestos para uso no están basados en el valor más bajo de cada una de las distribuciones, sino en el punto cercano al valor más bajo, de manera que cuando se utilice el TTC para efectos cancerígenos o para efectos no cancerígenos, existe la posibilidad de que una sustancia con una exposición por debajo del valor relevante del TTC pueda representar un riesgo potencial. Esta probabilidad ha sido estimada entre 0 y 5% (EFSA, 2012).

El uso de esta aproximación genera beneficios importantes en términos de reducción de la experimentación animal, específicamente cuando las exposiciones previstas para una sustancia se encuentran por debajo del nivel que se asocia con preocupaciones potenciales para la salud. Dados los avances en los métodos analíticos de detección y el probable incremento en un futuro de la cantidad de sustancias detectadas a niveles muy bajos, la aplicación de la aproximación TTC va a permitir también la priorización en el uso de los recursos para la evaluación de riesgo, que serán utilizados en sustancias químicas que planteen un riesgo potencial mayor (EFSA, 2016).

Finalmente se presenta el esquema genérico para la aplicación de la aproximación TTC desarrollado por la EFSA:

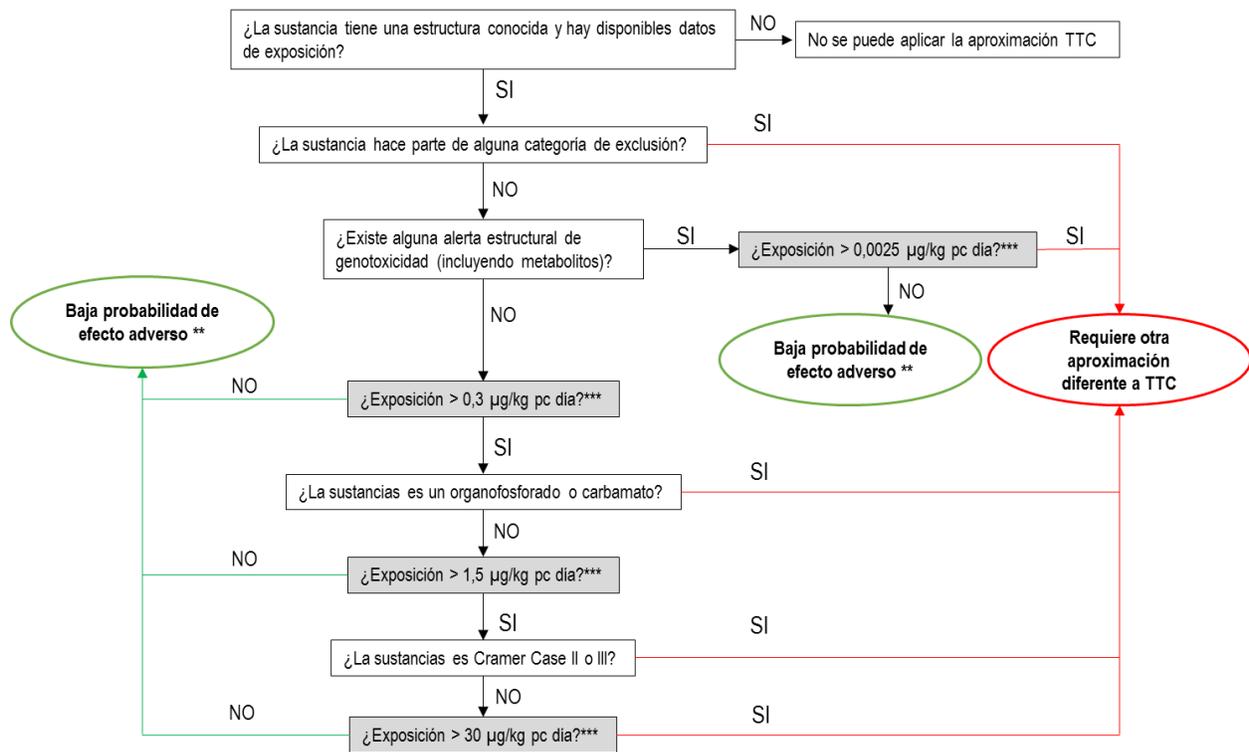
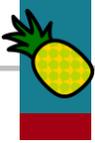


Figura 3. Esquema genérico para aplicación del TTC

*Categorías de exclusión (cancerígenos de alta potencia, sustancias inorgánicas, metales, proteínas, esteroides, sustancias que se bioacumulan, nano materiales, sustancias radioactivas, mezclas)

**Si la exposición en menores de 6 meses está en el rango del TTC considerar si el TTC se aplica

***Si la exposición es de corta duración, considerar el margen entre la exposición y el valor del TTC.

Acrónimos, siglas y abreviaturas

AFs	Aflatoxinas
ARfD	Dosis de referencia aguda
BMD	Dosis Benchmark
BMR	Respuesta Benchmark (por sus siglas en inglés)
CSAF	Factores de Ajuste Químico Específico (por sus siglas en inglés)
DRfA	Dosis de Referencia Aguda
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria
EPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos
IDA ADI (IDA)*	Ingesta Diaria Admisible, Acceptable daily intake.
IDAT	Ingesta Diaria Admisible Temporal
JECFA	Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios
JMPR	Reunión Conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas
LMR	Límite Máximo de Residuo (por sus siglas en inglés)
LOAEL	Lowest observed adverse effect level. Nivel de mínimo efecto tóxico observable (por sus siglas en inglés)
MF	Factor de Modificación (por sus siglas en inglés)
MOA	Mecanismo de Acción
MOE	Margen de Exposición (por sus siglas en inglés)
NOAEL	Nivel sin Efecto Adverso Observable
NOEL	Nivel sin Efecto Observable
OCDE	La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos
POD	Punto de Partida (por sus siglas en inglés)
PMTDI	Ingesta Diaria Tolerable Máxima Provisional (por sus siglas en inglés)
PTWI	Ingesta Semanal Tolerable Provisional (por sus siglas en inglés)
TDI	Ingesta Diaria Tolerable (por sus siglas en inglés)
TWI	Ingesta Semanal Tolerable (por sus siglas en inglés)
VSD	Dosis Virtualmente Seguras (por sus siglas en inglés)



WHO/OMS	World Health Organization / Organización Mundial de la Salud
TTC	Umbral de Preocupación Toxicológica
TOR	Termino de Referencia

Referencias

ATDST (U.S. Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Evaluación de riesgos en salud por la exposición a residuos peligrosos. ATDST; 1995. [Citado 2017/02/24]. Disponible en: <http://www.cridlac.org/digitalizacion/pdf/spa/doc11119/doc11119.htm>

Benford D, Bolger PM, Carthew P, Coulet M, DiNovi M, Leblanc JC, Renwick AG, Setzer W, Schlatter J, Smith B, Slob W, Williams G, Wildemann T. Application of the Margin of Exposure (MOE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic Food Chem Toxicol. 2010; 48 (1): S2-24.

Cramer GM, Ford RA, Hall RL. Estimation of toxic hazard a decision tree approach. Food and cosmetics toxicology, 1976; 16(3), 255-276.

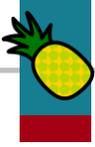
Codex Alimentarius. Glosario de términos y definiciones para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Comité del Codex sobre Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos (CCRVDF); 1993. [Citado 2017/02/24]. Disponible en: file:///C:/Users/msanchezt/Downloads/CXA_005s.pdf.

COC (Committee on Carcinogenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment). A strategy for the risk assessment of chemical carcinogens. Public Health England; 2012. COC/G1 [citado 2017/05/20]. Disponible en: <https://www.gov.uk/government/publications/a-strategy-for-the-risk-assessment-of-chemical-carcinogens>

COCa (Committee on Carcinogenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment). Risk Characterisation Methods. Public Health England; 2012. COC/G 06 [citado 2017/05/20]. Disponible en: <https://www.gov.uk/government/publications/cancer-risk-characterisation-methods>

COC (Committee on Carcinogenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment). Defining a Point of Departure and Potency Estimates in Carcinogenic Dose Response. Public Health England; 2014. COC/G5 [citado 2017/06/20]. Disponible en: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/359324/Defining_a_point_of_departure_and_potency_estimates_in_carcinogenic_dose_response.pdf

Crump KS. An improved procedure for low-dose carcinogenic risk assessment from animal data. J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. 1984; 5:339–348.



FDA (U.S. Food and Drug Administration Agency). Guidance for Industry: Submitting Requests under 21 CFR 170.39 Threshold of Regulation for Substances Used in Food-Contact Articles. Food and Drug Administration; 2005. 60 FR 36582 06 [citado 2017/05/20]. Disponible en: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-1995-07-17/pdf/95-17435.pdf>.

EFSA (European Food Safety Authority). EFSA Glossary. [Internet]. Italia. European Food Safety Authority; [citado 2017 Jul 12]. Disponible en: <https://www.efsa.europa.eu/en/glossary-taxonomy-terms>

EFSA (European Food Safety Authority). Use of the benchmark dose approach in risk assessment¹ Guidance of the Scientific Committee. The EFSA Journal. 2009; 1150:1-72.

EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on Exploring options for providing advice about possible human health risks based on the concept of Threshold of Toxicological Concern (TTC). The EFSA Journal 2012; 10(7):2750.

EFSA (European Food Safety Authority). Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to a Harmonised Approach for risk assessment of substances, which are both Genotoxic and Carcinogenic. European Food Safety Authority. The EFSA Journal. 2005; 282:1-3.

EFSA (European Food Safety Authority). Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain. European Food Safety Authority. The EFSA Journal. 2011; 9(5): 2140 [36p].

EFSA (European Food Safety Authority). Review of the Threshold of Toxicological Concern (TTC) approach and development of new TTC decision tree. European Food Safety Authority. Supporting publication 2016: EN-1006. 50 pp.

EPA (United States Environmental Protection Agency). Reference Dose (RfD): Description and Use in Health Risk Assessments. Washington, DC: Office of Health and Environmental Assessment; 1993. [Citado 2017/02/22]. Disponible en: <https://www.epa.gov/iris/reference-dose-rfd-description-and-use-health-risk-assessments#1.5>.

EPA (United States Environmental Protection Agency). Guidelines for Carcinogen Risk Assessment. Washington, D.C: U.S. Environmental Protection Agency; 2005. [Citado

2017/02/22]. Disponible en: https://www3.epa.gov/airtoxics/cancer_guidelines_final_3-25-05.pdf

EPA (United States Environmental Protection Agency). Benchmark Dose Technical Guidance. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency; 2012.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations / the World Health Organization). Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food. Stuttgart, Germany: World Health Organization; 2009. [Citado 2017/02/22]. Disponible en:

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44065/1/WHO_EHC_240_1_eng_front.pdf?ua=1

Gold LS, Gaylor DW, Slone TH. Comparison of cancer risk estimates based on a variety of risk assessment methodologies. Regul Toxicol Pharmacol. 2003; 37: 45-53

ILSI (International Life Sciences Institute). The acceptable daily intake a tool for ensuring food safety. Brussels, Belgium: ILSI Europe; 2000. [Citado 2017/02/24]. Disponible en: <http://ilsi.org/publication/the-acceptable-daily-intake-a-tool-for-ensuring-food-safety/>

IPCS (International Programme on Chemical Safety). Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food. Stuttgart, Germany: World Health Organization; 2009. [Citado 2017/02/24]. Disponible en: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chemical-food/en/>.

JMPR (Reunión Conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas). Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2009. Paper, No. 193. [Citado 2017/04/17].

JMPR (Reunión Conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas). Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues Rome, Italy, 3–12 October 2006. Rome: World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2006. Report No.:187. [Citado 2017/04/17].

Kroes R, Renwick A G, Cheeseman M A, Kleiner J, Mangelsdorf I, Piersma A, Schilter B, Schlatter J, van Schothorst F, Vos J G, Wurtzen G. Structure-based thresholds of Opinion



on Threshold of Toxicological Concern (TTC): guidance for application to substances present at low levels in the diet. *Food and Chemical Toxicology*. 2004; 42: 65-83.

Kroes R, Kleiner J, Renwick A. The threshold of toxicological concern concept in risk assessment. *Toxicol Sci*. 2005; 86(2):226-30.

Meek ME, Renwick A, Ohanian E, Dourson M, Lake B, Naumann BD, Vu V. Guidelines for application of chemical-specific adjustment factors in dose/concentration-response assessment. *Toxicology*. 2002; 181 (182): 115-120.

Munro IC, Ford RA, Kennepohl E, Sprenger JG. Correlation of structural class with no observed effect levels: a proposal for establishing a threshold of concern. *Food and Chemical Toxicology*. 1996; 34: 829-867.

OECD (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos). Guidance for the derivation of an acute reference dose. Paris: Organisation for Economic Co-Operation and Development; 2010. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 124 [Citado 2017/07/20]. Disponible en: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2010\)15&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2010)15&doclanguage=en)

WHO (World Health Organization). IPCS risk assessment terminology. Geneva: International Programme on Chemical Safety (IPCS); 2004. [Citado 2017/02/22]. Disponible en: <http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/ipcsterminologyparts1and2.pdf>

Williams GM. Mechanism of chemical carcinogenesis and application to human cancer risk assessment. *Toxicology*. 2001; 166: 3-10.



INSTITUTO
NACIONAL DE
SALUD

www.ins.gov.co

Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública
Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos (ERIA) y Plaguicidas



La salud
es de todos

MinSalud