

## CONFERENCIA INAUGURAL

### RIESGOS CARCINÓGENOS DEL CONSUMO DE CARNES ROJAS Y EMBUTIDOS SEGÚN LA IARC: ¿UN PROBLEMA TOXICOLÓGICO?

**Domingo JL**

*Laboratory of Toxicology and Environmental Health, School of Medicine, IISP, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Tarragona*

En octubre de 2015, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) emitió un comunicado de prensa informando sobre los resultados de la evaluación de la potencial carcinogenicidad derivada del consumo de carnes rojas y procesadas. Basándose en las evidencias acumuladas, publicadas en la literatura científica, el consumo de carne roja se clasificó como "probablemente carcinogénico para los seres humanos" y la carne procesada como "cancerígena para los seres humanos". Dada la importancia de este tema, y sus posibles repercusiones socioeconómicas, procedimos de inmediato a revisar cuales serían las causas que provocaba estos efectos cancerígenos. Las sustancias responsables de esta posible carcinogenicidad se generan durante el procesado de las carnes (e.g., curado o ahumado), o cuando la carne se calienta a altas temperaturas y se forman compuestos N-nitrosos, hidrocarburos aromáticos policíclicos y aminas aromáticas heterocíclicas. Sin embargo, en su evaluación, la IARC no hizo referencia alguna al papel que pueden desempeñar algunos contaminantes ambientales carcinógenos, que ya se encuentran presentes en la carne cruda o sin procesar. Se revisa aquí el papel potencial de una serie de contaminantes químicos ambientales (metales, hidrocarburos policíclicos aromáticos, dibenzo-p-dioxinas y dibenzofuranos policlorados, bifenilos policlorados, difenil éteres polibromados, difenil éteres policlorados, naftalenos policlorados y sustancias perfluorodas) sobre la carcinogenicidad del consumo de carnes rojas y productos cárnicos. Asimismo, se evalúa específicamente un caso-estudio en Cataluña, y se revisa la influencia de los procesos de cocción sobre las concentraciones de contaminantes medioambientales. Se concluye que, aunque ciertos procesos de cocción pueden modificar los niveles de contaminantes químicos en los alimentos, la influencia del cocinado sobre las concentraciones de contaminantes depende no sólo del proceso de cocción en particular, sino de forma mas importante de su contenido previo en cada alimento específico. Como la mayoría de estos contaminantes ambientales son orgánicos, los procedimientos de cocción que liberan o eliminan la grasa de la carne, deben tender a reducir las concentraciones totales de estos contaminantes en la carne cocinada. Recientemente, hemos revisado de nuevo el estado actual del tema desde la decisión de la IARC. Durante estos últimos meses se han publicado nuevos estudios epidemiológicos y nuevas revisiones que apoyan la decisión de la IARC. Sin embargo, todavía subsisten algunas lagunas. Así, es fundamental establecer los mecanismos que conducen a un mayor riesgo de cáncer colorectal (CCR) y otros tipos de cáncer derivados del consumo de carne roja y procesada. Concluimos también recomendando realizar nuevos estudios epidemiológicos para dilucidar claramente si el consumo de carnes blancas, como la de cerdo y/o la de aves de corral, se asocian, bien de manera positiva, o bien inversa, con un mayor riesgo de CCR y otros tipos de cáncer.

## CONFERENCIA PLENARIA

### IN VITRO BARRIERS: SPECIES-SPECIFIC MODELS IN VETERINARY AND HUMAN TOXICOLOGY

**Caloni F**

*Università degli studi di Milano, Dipartimento di Medicina Veterinaria (DIMEVET), Milan, Italy*

*In vitro* predictive tools, both as a stand-alone method or within an Integrated Testing Strategy (ITS), are on demanding to assess the adverse effects of substances in animal, human and environment and studies are urgently required in toxicology, also to meet the needs of the 3Rs principle, Reduce, Refine, Replace animal use (Directive 2010/63 EU). *In vitro* models for toxicological risk assessment thorough IATA approach, become increasingly complex: tridimensional cultures and tissues, co-cultures, organoids and organ-on-a-chip have been developed. 3D human and species-specific *in vitro* epithelial barrier, miming oral, respiratory and topic exposure and cultured on microporous filter supports in order to obtain a cell polarization with an apical and basolateral side, are predictive models for absorption, bioavailability, effects, transport and toxicity of chemicals. Reconstructed human epidermis (RhEs) closely mimic morphological, biochemical and physiological properties of human epidermis represents a useful model to predict *in vitro* skin absorption, irritation and corrosion. Alveolar type II epithelial cells (A549), bronchial epithelial cells (BEAS2-B) cultured on insert and the ALI (air-liquid interface) 3D model, represent *in vitro* barrier for inhalation exposure, while Caco-2 cells, cultured on microporous filter supports in order to obtain a cell polarization, with an apical and basolateral side, is a reliable model for oral absorption studies. Species specific models like 3D dog skin equivalent model air-liquid interface, porcine IPEC-J2 intestinal epithelial cells and IPEC-J2 MDR1s expressing P-glycoprotein (PgP), BME-UV1 bovine mammary epithelial cells cultured on inserts, are promising models in veterinary toxicology.

#### Referencias:

- [1] S. Gordon, M. Daneshian, J. Bouwstra, F. Caloni, S. Constant, D.E. Davies, G. Dandekar, C.A. Guzman, E. Fabian, E. Haltner, T. Hartung, N. Hasiwa, P. Hayden, H. Kandarova, S. Khare, H.F. Krug, C. Kneuer, M. Leist, G. Lian, U. Marx, M. Metzger, K. Ott, P. Prieto, M.S. Roberts, E.L. Roggen, T. Tralau, C. van den Braak, H. Walles, C.M. Lehr. Non-animal models of epithelial barriers (skin, intestine and lung) in research, industrial applications and regulatory toxicology. ALTERNATIVES TO ANIMAL EXPERIMENTATION ALTEX, 2015, 32(4):327-378.
- [2] F. Caloni, M. Meloni, Y. Sambuy, S. Alloisio, G. Mazzoleni. New alternative models for *in vitro* toxicology ALTEX ALTERNATIVES TO ANIMAL EXPERIMENTATION 2016 33 (4): 470-471.

## CONFERENCIA DE CLAUSURA

### LA CITÓMICA EN TOXICOLOGÍA

**O'Connor JE**

*Laboratorio de Citómica, Unidad Mixta de Investigación CIPF- UVEG, Universidad de Valencia-Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, España*

La Citómica, o Citometría de sistemas complejos, es una reciente disciplina que se orienta a la investigación molecular en células individuales y que permite acceder a múltiples características bioquímicas de los sistemas celulares y especialmente de los sistemas celulares heterogéneos. El progreso de la Citómica ha sido posible por la evolución de las tecnologías de análisis celular individual en matriz líquida, fundamentalmente la citometría de flujo, la citometría de imagen en flujo y, más recientemente, la citometría de flujo de espectrometría de masas. Por otra parte, las técnicas de microscopía automatizada con algoritmos de segmentación permiten el análisis citómico de alto contenido en soporte sólido. El estudio de los efectos celulares y los mecanismos

de acción de tóxicos y xenobióticos es una aplicación muy relevante de la citometría, ya que el análisis citómico determina el fenotipo molecular en cada célula individual, como resultante del genotipo y la exposición a factores externos. La sensibilidad y resolución temporal de la citometría, y el elevado número de parámetros que se pueden analizar simultáneamente en cada célula, proporcionan una visión integradora de la función celular y sus alteraciones (“Toxicity Pathways”). La citómica aborda el problema de la interpretación de datos homogéneos, en los que los efectos pueden ser atribuidos a cambios uniformes en todas las células en lugar de en subpoblaciones determinadas, que pueden ser muy minoritarias. Aunque la mayor parte de las aplicaciones de la Citómica en Toxicología se enfocan a los estudios *in vitro*, el carácter no invasivo de la citometría de flujo y la fácil accesibilidad a tipos celulares de relevancia, como leucocitos de sangre periférica, espermatozoides o, incluso organismos unicelulares en su propio entorno facilita la monitorización fenotípica de los efectos de fármacos y xenobióticos sobre organismos enteros o los ecosistemas (“Biomarcadores de exposición y de efecto”). En nuestro laboratorio, la Citómica, como tecnología de análisis celular multiparamétrico se aplica desde hace más de treinta años en estudios básicos de toxicidad *in vitro* y como sistema *in vitro* de predicción de toxicidad aguda y crónica, clasificación de riesgo químico, metabolismo y biotransformación de xenobióticos y de toxicidad especializada (hepatotoxicidad, inmunotoxicidad, hematotoxicidad y ecotoxicidad). En esta presentación se mostrarán ejemplos de dichas aplicaciones desarrolladas en el contexto de proyectos de prevalidación de técnicas citométricas (encargado por ECVAM), predicción de toxicidad aguda (proyecto Acute Tox, FP6) y toxicidad crónica (proyecto Predictomics, FP6) y de mejora de la seguridad preclínica de fármacos (proyecto Melius).

## MESAS REDONDAS DE LAS SECCIONES DE LA AETOX

### Mesa redonda de Seguridad Alimentaria y Educación. “Riesgos Emergentes”

*Moderadoras: Dra. Silvia Pichardo y Dra. Mónica Fernández*

#### MR/SA-ET/01-PRIORIZACIÓN DE RIESGOS EMERGENTES (RISK RANKING)

Yusà V<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Dirección General de Salud Pública. Generalitat Valenciana.

<sup>2</sup> Departamento de Química Analítica. Universitat de València

La Unión Europea estima que alrededor de 1000,00 sustancias químicas se han puesto en el mercado en los últimos 75 años, la mayoría sin el adecuado control toxicológico previo. Algunos son contaminantes persistentes, y muchos de ellos podrían ser cancerígenos, mutagénicos o disruptores endocrinos. Estos contaminantes ambientales, más algunos derivados de los procesos de elaboración, pueden estar incorporarse a la cadena alimentaria. La seguridad alimentaria, en su vertiente de control de los contaminantes y residuos de los alimentos, requiere una previa evaluación del riesgo, con sus cuatro etapas básicas: identificación del peligro, caracterización del riesgo, evaluación de la exposición y caracterización del riesgo [Dorne, 2013]. La caracterización del riesgo se ha definido como la “estimación cuantitativa o semicuantitativa de la probabilidad de que ocurra un efecto adverso sobre la salud, así como su severidad, en una determinada población bajo condiciones definidas basadas en la identificación del peligro,

su caracterización y la estimación de la exposición” [EC, 2000]. Esta caracterización del riesgo, tanto para contaminantes regulados (prioritarios) como emergentes, es la base para su priorización en las distintas actividades de gestión del riesgo (*risk management*), incluyendo los programas de control. Se han utilizado distintos parámetros para priorizar los peligros químicos (*risk ranking*) en el marco de la gestión del riesgo derivado de su presencia en los alimentos. El enfoque es equivalente tanto se trate de un peligro ya claramente establecido (regulado) o emergente [Vromman, 2014]. La priorización puede establecerse de manera global para todos los peligros objeto de control, o de manera segmentada (cancerígenos y/o genotóxicos; antibióticos de uso veterinario, plaguicidas, etc). Para la priorización del riesgo de las distintas sustancias se utilizan varios parámetros de medida:

- La caracterización del riesgo* mediante el Cociente de Peligro (Hazard Quotient, HQ). El HQ es una relación entre la exposición de la población y un Valor Guía Basado en Salud (HBGV). En el caso de las sustancias cancerígenas y genotóxicas (no puede establecerse un valor umbral), se utiliza Margen de Exposición (MOE) como cociente de peligro [EFSA, 2005]. Para las otras sustancias, se utilizan la Ingesta Diaria Admisible/Tolerable (A/TDI) o parámetros similares como HBGV. En general la caracterización del riesgo se realiza mediante la evaluación de la **exposición externa** (combinación de niveles de contaminación y consumo de alimentos), a través de Estudios de Dieta Total (EDT) o valores de monitoring. Sin embargo, va cobrando relevancia el uso de la exposición interna (dosis interna) estimada mediante programas de Biomonitoring [NRC, 2006]. En este caso es necesario disponer de HBGV específicos referidos al biomarcador. Se han desarrollado dos tipos de valores de referencia, los HBM-I/II y los Biomonitoring Equivalents (BE) [Hays, 2009]
- Prevalencia en alimentos: Establecida con datos históricos de los programas de control y monitoring.

Del uso de los anteriores parámetros de medida, solos o combinados, puede establecerse una priorización de las sustancias de modo continuo o en rangos (prioridad alta, media o baja). Es importante señalar que en el contexto del control oficial de los peligros químicos, a través de programas de monitoring, es necesario determinar las combinaciones de peligro/alimento más relevantes.

#### Referencias

- Dorne, J. L. C. Mand Fink-Gremmels, J. 2013. Human & animal health risk assessment of chemicals in the food chain: comparative aspects and future perspectives. *Toxicol. Appl. Pharmac.* 270:187-195.
- European Commission (EC). 2000. Report of the EC Scientific Steering Committee’s Working Group on Harmonisation of Risk Assessment Procedures in the Scientific Committees advising the European Commission in the area of human and environmental health—27–27 October 2000. Part 2. Appendix I- Glossary of terms
- [EFSA] European Food Safety Authority. 2005a. 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 (Request No EFSA-Q-2004-020). *EFSA J.* 280:1–31  
Hays, M., Aylward, L.L., 2009. Using Biomonitoring Equivalents to interpret human biomonitoring data in a public health risk context. *J. Appl. Toxicol.* 29, 275–288.
- National Research Council (NRC), 2006. Human Biomonitoring for Environmental Chemi-cals. National Academy of Sciences, Washington, DC3FAO.

- [5] Vromman et al. 2014. Risk ranking priority of carcinogenic and/or genotoxic environmental contaminants in food in Belgium

### MR/SA-ET/02-IDENTIFICACIÓN TEMPRANA DE RIESGOS EMERGENTES

#### Troncoso A

*Departamento de Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla*

Los riesgos emergentes son aquellos derivados de un nuevo peligro o una exposición inusualmente elevada a un peligro ya conocido y/o con una sensibilidad creciente. Los ejemplos clásicos incluyen el cambio climático y la aparición de aflatoxinas en los cultivos de cereales en la Unión Europea (UE), el consumo elevado de bebidas energéticas, la salud de las abejas o el impacto potencial de las tecnologías ómicas en la evaluación de los riesgos. A pesar de que la identificación de riesgos emergentes requiere un alto nivel de experiencia debido a las grandes lagunas de datos e incertidumbres en el proceso de evaluación, la experiencia demuestra que año tras año se identifican riesgos emergentes. Como fuentes principales para identificar riesgos emergentes en el ámbito de la Unión Europea se pueden citar la red europea de alertas de alimentos y piensos (RASFF), los datos de controles oficiales, las publicaciones científicas, los medios de comunicación, las tendencias del mercado, entre otros. En esta comunicación se exponen una serie de casos concretos de riesgos emergentes recientes junto al papel potencial de la red de alerta alimentaria en la identificación de riesgos emergentes.

### MR/SA-ET/03-RIESGOS EMERGENTES Y AGENCIAS DE SEGURIDAD ALIMENTARIA EN LA UNIÓN EUROPEA

#### Calderón V, López R

*Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Calle Alcalá 56, 28014 Madrid*

De acuerdo con el Comité Científico de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), y teniendo en cuenta los artículos 23f y 34 del Reglamento (CE) N° 178/2002, un riesgo emergente para la salud humana, animal o vegetal es un riesgo resultante de un nuevo peligro identificado para el que puede producirse una exposición significativa, o el riesgo derivado de una exposición o susceptibilidad nuevas o incrementadas significativamente a un peligro conocido (EFSA, 2007). A nivel de la Unión Europea, el principal Organismo de evaluación de riesgos es EFSA, una organización independiente financiada con el presupuesto de la UE que opera separadamente de la Comisión Europea, el Parlamento y los Estados miembros de la UE. EFSA da un tratamiento específico a los riesgos emergentes de origen alimentario. Dispone de una Red de intercambio de información sobre riesgos emergentes con los Estados miembros, un Grupo de consulta sobre estos riesgos con partes interesadas, un Grupo de trabajo sobre riesgos emergentes dentro de su Comité Científico y una Unidad interna de riesgos emergentes. En los 28 países de la Unión Europea existen 65 Organismos designados por las autoridades nacionales competentes para realizar la evaluación de riesgos alimentarios así como 88 dedicados a la gestión y control y 63 a la comunicación de riesgos de origen alimentario (BfR, 2015). Aunque en estas Agencias y entidades nacionales no se da un tratamiento tan específico a los riesgos emergentes como el de EFSA, algunas cuentan con herramientas que facilitan la detección de estos riesgos como es la nutrivigilancia o los laboratorios de referencia e investigación. En

el caso de España el artículo 30 de la Ley 17/2011, de 5 de julio, de seguridad alimentaria y nutrición establece que la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición es la encargada, con el apoyo de su Comité Científico y la cooperación de las comunidades autónomas, de coordinar las actuaciones necesarias para la identificación y evaluación de riesgos emergentes utilizando las herramientas disponibles a nivel nacional e internacional, siguiendo especialmente las directrices de EFSA.

#### Referencias:

- [1] BfR (2015). Bundesinstitut für Risikobewertung. Almanaque de Seguridad Alimentaria de la UE. <http://www.bfr.bund.de/cm/350/eu-almanach-lebensmittelsicherheit-spanisch.pdf>
- [2] EFSA (2007). European Food Safety Authority. Definition and description of “emerging risks” within the EFSA’s mandate. <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/escoemriskdefinition.pdf>

### Mesa redonda. “Toxicología Experimental y Métodos Alternativos”

*Moderadores: Dra. Rosario Moyano y Dr. Guillermo Repetto*

### MR/TE-MA/01- ASPECTOS LEGALES DE LA INVESTIGACIÓN *IN VIVO* Y LA FORMACIÓN

#### León P

*Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid*

El uso de animales con fines científicos o de docencia es una realidad que precisa de regulación que ofrezca un marco adecuado para esta actividad. En Europa la regulación que ha establecido las condiciones de uso de los animales en investigación durante cerca de 25 años se publicó en 1986. Sin embargo, los conocimientos de la comunidad científica, las posibilidades técnicas y la percepción de la sociedad hicieron necesaria la elaboración de una nueva regulación que es de aplicación desde 2013. La norma actualmente en vigor establece las condiciones de uso cuando no es posible obtener la información que se requiere mediante estrategias sin animales. En esa situación regula aspectos vinculados no solo a los propios animales (especies o grupos de animales, origen, destino de los mismos), sino también a los lugares en los que se utilizan (animalarios), quien actúa sobre esos animales y circunstancias de uso (procedimientos y proyectos), o a los registros y autorizaciones pertinentes de tal forma que, permitiendo obtener los objetivos, el número de animales utilizados se reduzca al máximo y su sufrimiento sea el menor posible. Se prohíbe expresamente la experimentación con los grandes simios (gorilas, chimpancés, orangutanes y bonobos). Destacan el esfuerzo por aumentar la transparencia en las actuaciones y ofrecer a los ciudadanos interesados la oportunidad de conocer cómo y por qué se emplean animales para obtener información científica, principalmente mediante la publicación de los resúmenes no técnicos de los proyectos que autorizan las autoridades o de datos estadísticos de los usos realizados. Uno de los aspectos que han despertado mayor expectación ha sido la regulación por parte de la Administración General del Estado de los requisitos de capacitación del personal que trabaja con estos animales. La orden ministerial se ocupa tanto de los requisitos a satisfacer por las personas (que participan en el cuidado o en la eutanasia de los animales, o que desarrollan o diseñan los procedimientos y proyectos que indican cómo debe ser el uso que se realiza, o de los responsables del bienestar o la sanidad

de esos animales), como de los cursos y actividades que proporcionan y permiten mantener esa capacitación, o de las entidades en las que éstos se cursan. Por otra parte, es de señalar que dada la gran variedad de aspectos contenidos en la normativa, la posibilidad de interpretar algunos aspectos, o el elevado número de autoridades y actores afectados por la misma, se han establecido diferentes foros que permiten armonizar la implementación de la norma. Así, por ejemplo se convocan reuniones bianualmente de los puntos de contacto nacionales, que suele tener lugar en Bruselas y tener una duración de dos días. A nivel nacional también las autoridades competentes de las diferentes comunidades autónomas se reúnen al menos una vez al año.

#### MR/TE-MA/02- A FALTA DE MÉTODOS ALTERNATIVOS: REFINAMIENTO

Rodrigo T

Unitat d'Experimentació Animal de Farmàcia i Unitat d'Experimentació Animal de Psicologia. Universitat de Barcelona

La actual normativa europea<sup>1</sup> y nacional<sup>2</sup> que regula la utilización de los animales con fines científicos establece de manera clara que cualquier proyecto de investigación con animales debe haber aplicado los enfoques alternativos en su elaboración, en especial relevancia los principios de las 3 Rs<sup>3</sup> y en el siguiente orden: 1º) Reemplazo, 2º) Reducción y 3º) Refinamiento. Para ello, es indispensable haber realizado una búsqueda eficaz sobre métodos alternativos en las distintas bases de datos existentes, una tarea compleja dada la gran cantidad de fuentes de información. Fomentar la investigación en métodos alternativos y difundir la información de los mismos es también uno de los objetivos de la normativa. En ese sentido, desde la Comisión Europea se elaboró en 2012 un documento sobre la disponibilidad de información y las estrategias de búsqueda acerca de las 3Rs<sup>4</sup>. Más recientemente, y como una de las acciones comprometidas en respuesta a la Iniciativa Ciudadana Europea "Stop Vivisection", ha elaborado un análisis de cómo acelerar el intercambio de conocimientos sobre las 3Rs, mejorando la coordinación, comunicación y divulgación que facilite su aplicabilidad<sup>5</sup>. Por tanto, los proyectos, antes de ser autorizados, deben garantizar *a priori* que en su diseño se han valorado todas las posibilidades que ofrecen las estrategias alternativas. En algunos casos, y una vez autorizados, algunos proyectos deberán someterse además, *a posteriori*, a una evaluación retrospectiva. La normativa actual obliga a una evaluación retrospectiva a todos los proyectos que utilicen primates no humanos y los que incluyan procedimientos clasificados como severos o clasificados como moderados pero que así se haya dispuesto en su autorización. La evaluación retrospectiva se considera una herramienta eficaz en la revisión crítica del uso de animales en procedimientos científicos y en la identificación de futuras mejoras de las 3Rs que puedan aplicarse a futuros estudios. Un ejemplo claro de los beneficios de una evaluación retrospectiva, lo podemos encontrar en el trabajo realizado desde NC3Rs en relación al uso de signos de "toxicidad evidente" como una alternativa refinada a la muerte como punto final en los estudios de toxicidad aguda por vía inhalatoria<sup>6</sup>. Una evaluación retrospectiva de los proyectos, sea o no de obligado cumplimiento, junto con un sistema coordinado de intercambio de datos que permita la comunicación y la divulgación de los nuevos conocimientos, podría permitir la inversión del orden de las 3Rs, del refinamiento a la reducción y al reemplazo, objetivo final de la normativa y de nuestra responsabilidad moral y ética hacia los animales que se utilizan con fines científicos.

#### Referencias:

- [1] Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos; «DOUE» núm. 276,

de 20 de octubre de 2010, págs. 33-79;

- [2] Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. «BOE» núm. 34, de 8 de febrero de 2013, págs. 11370-11421;
- [3] Russell W.M.S. and Burch R.L. (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*. Methuen, London;
- [4] *A working document on the Availability of Information on the Three Rs*. Bruselas: Comisión Europea (2012);
- [5] Holley T., Bowe G., Campia, I., et al. (2016). *JRC report "Accelerating progress in the Replacement, Reduction and Refinement of animal testing through better knowledge sharing"*. EUR; doi:10.2788/243531;
- [6] Sewell F., Ragan I., Marczylo T., et al. (2015). *A global initiative to refine acute inhalation studies through the use of 'evident toxicity' as an endpoint: Towards adoption of the fixed concentration procedure*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73, págs. 770-779.

#### MR/TE-MA/03- TÉCNICAS DE IMAGEN NO INVASIVAS EN LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

Noguera I

Servei Central Suport Investigació Experimental (SCSIE), Universitat de València

Siguiendo los objetivos, tanto de la directiva 2010/63/UE como del Real Decreto 53/2013, buscamos la utilización de técnicas de imagen no invasivas para optimizar la utilización de animales de experimentación al reducir el número de animales y refinar las técnicas utilizadas en los procedimientos experimentales. Mediante las técnicas de imagen no invasivas podemos "reducir" el número de animales al permitir que un mismo animal pueda ser utilizado como control y como individuo de estudio en distintos tiempos del procedimiento. Al mismo tiempo nos permite conocer en cada momento el progreso de la patología implantada proporcionando una supervisión más profunda de cada individuo. Imagen óptica en animales está basada en el uso de fotones de luz para la obtención de imágenes. Para estudios in vivo podemos utilizar la bioluminiscencia y la fluorescencia. Gracias al desarrollo de cámaras muy sensibles tipo CCD (charged coupled devices) se han podido transferir para uso in vivo, técnicas en principio sólo viables en imágenes de microscopio. Las sondas fluorescentes para uso in vivo de emisiones en el infrarrojo cercano (NIR) poseen una mayor penetración en el tejido biológico. Otra técnica de imagen utilizada en experimentación es la cámara PET/TAC. La tomografía axial computarizada (TAC) es una técnica de imagen médica que utiliza radiación X para obtener cortes o secciones de objetos anatómicos con fines diagnósticos. La tomografía de emisión de positrones (PET) es una técnica de imágenes de medicina nuclear que aprovecha la emisión de ciertos elementos radioactivos de positrones. La fusión de imágenes de la cámara PET/TAC nos permite superponer imágenes anatómicas e imágenes de función celular (o metabolismo) obteniendo una mayor exactitud diagnóstica y mayor facilidad de interpretación. Otra opción de "refinamiento" en cirugía experimental que debe ser tenida en cuenta es la utilización de técnica de acceso vascular eco-guiado, reduciendo la incidencia de complicaciones. La utilización de equipo diagnóstico por imagen de escópias es un sistema de visión directa en exploraciones con contraste lo que permite la obtención de algunos modelos experimentales por una metodología menos traumática ejemplo infarto agudo de miocardio en modelo porcino.

**Palabras clave:** reducción, refinamiento, imagen no invasiva

**Mesa redonda. “Las nuevas drogas psicoactivas desde los puntos de vista clínico y forense”**

*Moderadores: Dra. María Luisa Soria y Dr. Tomás Camacho*

**MR/TF-TC/01- INCIDENCIA DE LAS NUEVAS DROGAS PSICOACTIVAS EN EL ÁMBITO DEL INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES DE VALENCIA. ASPECTOS CLÍNICOS Y DE LABORATORIO.**

**Garrido-Lestache E**

*Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Avda Profesor Piñero 14 46013 Valencia España*

Entendemos por drogas emergentes aquellas sustancias que aparecen en el mercado de las drogas en un momento determinado y son una novedad, conocidas o no previamente y por lo general no están incluidas en las listas de sustancias psicótropas o estupefacientes, pudiendo no ser ilegales. Las nuevas drogas psicoactivas (NPS) aparecen a mediados de siglo XX de la mano de bioquímicos, ingenieros químicos y químicos. Muchas de ellas surgen de la necesidad de descubrir nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de diferentes enfermedades, la prueba más clara de ello son los cannabinoides sintéticos. Estas sustancias, descubiertas por el americano John W. Huffman en la década de los ochenta, pretendían utilizar los efectos beneficiosos del cannabis sobre los receptores CB1 distribuidos a lo largo del organismo y, sobre todo, presentes a nivel del sistema central. A partir del año 2000 comenzaron a venderse y a emplearse como droga de uso recreativo debido a que los efectos provocados eran más intensos que tras un consumo de cannabis clásico, comenzando a ser un problema más palpable en nuestro medio unos diez años después. Son, en general, junto con las catinonas y algunas sustancias como el GHB o la ketamina las NPS que se encuentran más habitualmente. Presentamos los resultados analíticos en el IMLCCFF de Valencia entre los años 2015 y 2016, tanto de sujetos vivos examinados en las dependencias judiciales como de fallecidos, cuyas autopsias han sido realizadas en nuestro Instituto. De dicho estudio se desprende que en nuestro entorno, en concreto en la provincia de Valencia junto con el alcohol, cocaína y cannabis, como sustancias de consumo ya conocidas, aparecen mayoritariamente, las anfetaminas y sus derivados. Mención aparte merece la ketamina, sustancia que hasta ahora se había detectado en casos muy puntuales y que a lo largo de estos dos años de estudio se han detectado en 14 casos. 5, en el año 2015 y 9, en el 2016. La ketamina, fármaco anestésico general con efectos alucinógenos, se consume con fines lúdicos, y desde el 2010 está incluida en la Lista IV del anexo I del R.D. de 1977 sobre psicótropos. El GHB (ácido gammahidroxibutirato) y las catinonas se han encontrado en casos aislados (en un caso para cada sustancia). La solicitud de análisis se ha realizado fundamentalmente desde el servicio de patología y en segundo lugar, desde las distintas dependencias clínicas, tras examinar a sujetos vivos a petición del Juzgado Instructor, y en menor cuantía a petición de la Audiencia Provincial. Las muestras biológicas en las que se han solicitado sus análisis, ha sido mayoritariamente en las muestras de orina, en segundo lugar en sangre y en tercer lugar en muestra de cabello. Exponemos en esta mesa redonda el caso de un fallecido relacionado con NPS, en concreto con un cannabinoide sintético (JWH-205). Las dudas que se nos plantean ante el panorama actual son múltiples y, muchas de ellas, difíciles de responder. Todavía observamos que no somos capaces de detectar a tiempo estas sustancias y que, en ocasiones, no se buscan porque todavía no sospechamos su presencia. Además, cabe destacar uno de los peligros de las NPS. De la mayor parte de estas sustancias desconocemos las dosis necesarias para sobrepasar el umbral de la toxicidad y la letalidad, así como sus efectos en

consumidores a corto y largo plazo; siendo imprevisible la repercusión que generará su consumo en los años venideros. Queda pendiente todavía establecer protocolos y fomentar la estrecha colaboración entre los ámbitos de Sanidad y Justicia para poder detectar estas sustancias en aquellos casos de intoxicación que se tratan a nivel hospitalario sin que llegue a producirse la muerte de estos sujetos siendo necesaria la intervención de nuestros laboratorios para poder detectar parte de estas sustancias.

**Palabras clave:** drogas emergentes, solicitudes, análisis, IMLCFV

**MR/TF-TC/02- EXPERIENCIA EN CASOS FORENSES CON LAS NUEVAS SUSTANCIAS PSICOACTIVAS (NPS). REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.**

**Almarza E**

*Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Servicio de Drogas. Madrid*

Las nuevas sustancias psicoactivas (NPS) han sido definidas por el EMCDDA (european monitoring centre for drugs and drugs addition) como sustancias químicas no controladas por el derecho internacional y producidas para imitar los efectos de las drogas controladas. En 2015 se notificaron en el sistema de alerta rápida de la UE por primera vez 100 sustancias, así el nº total de sustancias monitorizadas como NPS se elevó a 560, de ellas el 70% (380) se han notificado en los últimos 5 años. Las mayores incautaciones fueron de cannabinoides sintéticos, seguidos por las catinonas sintéticas, entre los dos grupos representan el 75 % de las incautaciones. Desde el punto de vista de los laboratorios forenses las NPS se han convertido en un reto, pues es necesario desarrollar métodos específicos, habitualmente por cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas, para determinarlas en muestras biológicas. Como problemas añadidos están la falta de materiales de referencia, la ausencia, en muchos casos, de datos de metabolismo y otros estudios farmacológicos que dificulta la interpretación de los resultados obtenidos. La experiencia en el INTCF de Madrid es escasa, se reduce a cuatro asuntos entre 2014-2015, en ellos se han detectado varias catinonas sintéticas junto a drogas clásicas. Se trata de dos fallecidos, un detenido por una pelea familiar y otra persona que sufrió una agresión y robo bajo los efectos de una NPS. El tipo de sustancias, la falta de datos farmacológicos y su forma de distribución hacen de este fenómeno un desafío para los laboratorios de análisis y para la salud pública, pues aunque en España su consumo no parece ser muy elevado, puede tener consecuencias muy graves para la salud y por ello hay que mantenerse vigilantes en la evolución del mercado gracias a la coordinación de todos los estamentos implicados y avanzar en la legislación pues la situación de “alegalidad” de muchas de ellas hace mucho más difícil su control.

**Palabras clave:** Nuevas sustancias psicoactivas, forense, muestras biológicas

**MR/TF-TC/03- NUEVAS SUSTANCIAS PSICOACTIVAS: A PROPÓSITO DE LOS CANNABINOIDES SINTÉTICOS.**

**Torrens M**<sup>1,2</sup>, **Farré A**<sup>1</sup>, **Papaseit E**<sup>2,3</sup>, **Farré M**<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Adicciones de l'Institut de Neuropsiquiatria i Adiccions-Hospital del Mar; <sup>2</sup>IMIM-Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques de Barcelona, Barcelona; <sup>3</sup>Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, Spain; <sup>3</sup> Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (HUGTP-IGTP), Barcelona, Spain

El fenómeno de las nuevas sustancias psicoactivas (NSP) es reciente y en aumento en los últimos años. Hasta diciembre de 2016, 102 países notificaron a UNODC más de 700 NSP desde 2008. Los NPS se definen como "sustancias de abuso, ya sea en forma pura o en una preparación, que no están controladas por la Convención Única de 1961 sobre Estupefacientes o el Convenio de 1971 sobre Sustancias Psicotrópicas, pero que puede constituir una amenaza para la salud pública". El término "nuevo" se refiere a las sustancias que recientemente se han puesto a disposición en el mercado. Dado que las NSP no están controladas, su situación jurídica puede variar mucho de un país a otro. Las NSP son baratas, fáciles de obtener y, a menudo, legalmente disponibles. Las NSP aparecieron en el mercado bajo nombres tales como "Legal highs", "Research Chemicals" o "Party pills", aunque también se habla de drogas emergentes, drogas recreativas, drogas de diseño o drogas sintéticas. Dependiendo de la sustancia se venden como incienso, especias ("Spice"), fertilizantes o abonos para plantas, sales de baño ("Bath salts"), limpiadores o mezclas de plantas. Los principales grupos de sustancias de NPS son cannabinoides sintéticos (JWH-018, APINACA, CHMINACA entre muchos otros), fenetilaminas, catinonas sintéticas, aminoindanos, ketamina y sustancias de tipo fenciclidina, piperazinas, triptaminas, benzodiazepinas, opioides y sustancias vegetales. En esta ponencia se presentará el estado de la situación de los cannabinoides sintéticos, clasificación, datos de consumos, mecanismos de acción, efectos farmacológicos, intoxicación aguda y potencial adictivo.

**Agradecimientos:** Financiado en parte por ayudas del Instituto de Salud Carlos III (RETICS, Red de Trastornos Adictivos, RD16/0017/0010 i RD16/0017/0003; Proyectos de Investigación en Salud, PIS-FEDER, PI14-00715; Esther Papaseit es beneficiaria de una ayuda Juan Rodes, JR16/00020), y Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (Plan Nacional sobre Drogas, 2015I054 i 2016I024).

**Mesa redonda. "Fármacos de uso veterinario y humano en el medio ambiente. ¿Pueden suponer un riesgo ambiental?"**

*Moderadores: Dr. Francisco Soler y Dra. María José González*

**MR/TA-TV/01- ANTIMICROBIANOS EN RESIDUOS ANIMALES**

**Carballo M.** y De la Torre A.

*INIA-CISA. Sección de Epidemiología y Sanidad Ambiental. Carretera Algete-El Casar s/n. Valdeolmos, 28130 Madrid.*

Los antimicrobianos se encuentran entre los fármacos más utilizados en sanidad animal. Se estima que más de un 70% de estas sustancias se eliminan en las excretas. Existen ya evidencias científicas que las excretas animales pueden vehicular estas de sustancias. Su llegada al medio ambiente se produce a través de la reutilización agraria de estos subproductos. Por ello la presencia de residuos de antimicrobianos en excretas animales, cuestiona en algunos casos, su utilización como enmienda orgánica en los campos agrícolas. Especial interés presentan los antibióticos con alta capacidad de adsorción a materia orgánica y una persistencia elevada, ya que estas características favorecen su acumulación en los compartimentos ambientales, especialmente en el compartimento terrestre, donde se está detectando la aparición de efectos adversos en organismos del medio, tal y como demuestran los programas de

vigilancia que se están llevando a cabo en diferentes países europeos. El objetivo de este trabajo se centra en analizar las nuevas indicaciones que se proponen en la Guía Europea de Valoración de Riesgo de Medicamentos Veterinarios para valorar esta situación y minimizar los riesgos ambientales. También se comenta los tratamientos que se realizan en las excretas animales, diseñados para mejorar su aprovechamiento agrario, pero que presentan cierta eficacia en la degradación de algunos grupos de antibióticos.

**Palabras clave:** antimicrobianos veterinarios, valoración de riesgo.

**MR/TA-TV/02- FÁRMACOS VETERINARIOS Y LAS AVES CARROÑERAS: SITUACIÓN ACTUAL EN ESPAÑA**

**Mateo R**

*Grupo de investigación en Toxicología de la Fauna Silvestre, Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC) CSIC-UCLM-JCCM, Ronda de Toledo 12, 13005 Ciudad Real*

El grave impacto que tuvo el diclofenaco en las poblaciones de buitres asiáticos dio la alarma de una deficiente evaluación del riesgo que los fármacos veterinarios pueden tener en el medio ambiente. En el caso del diclofenaco se da la particularidad de la elevada toxicidad que este antiinflamatorio no esteroideo tiene en las aves rapaces, aspecto posiblemente no tenido en cuenta a la hora de regular este fármaco en clínica veterinaria de animales de abasto [1]. A pesar de la experiencia adquirida tras el colapso de las poblaciones de buitres en Asia, en 2013 este fármaco fue autorizado para su uso en veterinaria en España. Esto es especialmente grave dado que en España se encuentra la mejor población de aves carroñeras de toda Europa, que ofrece un importante servicio ecosistémico como es la eliminación de carroñas. Actualmente se están llevando a cabo estudios para valorar con datos de campo el riesgo de exposición e intoxicación por diclofenaco en los buitres en España y los primeros resultados indican que carroñas de ganado doméstico tratado con dicho antiinflamatorio están llegando a los muladares en los que se alimentan los buitres. El riesgo para los buitres se ha visto que puede extenderse a otros antiinflamatorios no esteroideos, como es el caso del flunixin [2]. Existen otros fármacos de uso veterinario que también deben ser reevaluados en base a las evidencias de exposición en aves carroñeras amenazadas. Así por ejemplo, el quebrantahuesos (*Gypaetus barbatus*) resulta expuesto de forma casi continua a residuos de antiparasitarios externos usados en el ganado ovino. El 71% de las patas de cordero sacrificado en matadero que son después aportadas a muladares de quebrantahuesos contienen antiparasitarios externos, en especial diazinón. La evaluación de riesgo de este organofosforado para la exposición en quebrantahuesos a través de esta fuente de alimento apunta a la posibilidad de efectos adversos en la termorregulación que pueden ser muy relevantes en una especie nidificante en alta montaña [3]. La exposición a antibióticos en buitres en España ha sido estudiada por diversos grupos de investigación, apuntando a una exposición a fluoroquinolonas y otras familias de antibióticos que requerirán de más estudios para poder valorar sus efectos [4]. Por último, debemos considerar que existe un riesgo de intoxicación en aves carroñeras cuando se alimentan de cadáveres de animales domésticos eutanasiados con barbitúricos [5]. En conclusión, una correcta evaluación con fines regulatorios debe considerar la posibilidad de que estos fármacos lleguen por la cadena trófica a las aves carroñeras en unas cantidades capaces de producir efectos adversos en estas aves. La búsqueda de alternativas con menor riesgo para las aves carroñeras (p.e. sustitución del diclofenaco por meloxicam o del diazinón por piretroides) y la implantación de otras medidas para reducir el riesgo de exposición (p.e. eliminación de animales eutanasiados) deben ser tenidas en cuenta por los

veterinarios clínicos.

**Palabras clave:** aves rapaces, AINEs, organofosforados, antibióticos, barbitúricos.

**Referencias:**

- [1] Oaks, J.L., Gilbert, M., Virani, M.Z., Watson, R.T., Meteyer, C.U., Rideout, B.A., Shivaprasad, H.L., Ahmed, S., Chaudhry, M.J.I., Arshad, M., Mahmood, S., Ali, A., Khan, A.A. 2004. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 427:630-633.
- [2] Zorrilla, I., Martínez, R., Taggart, M.A., Richards, N. 2015. Suspected flunixin poisoning of a wild Eurasian griffon vulture from Spain. *Conservation Biology* 29: 587-592.
- [3] Mateo, R., Sánchez-Barbudo, I.S., Camarero, P.R., Martínez, J.M. 2015. Risk assessment of bearded vulture (*Gypaetus barbatus*) exposure to topical antiparasitics used in livestock within an ecotoxicovigilance framework. *Science of the Total Environment* 536: 704–712.
- [4] Blanco, G., Junza, A., Segarra, D., Barbosa, J., Barrón, D. 2016. Wildlife contamination with fluoroquinolones from livestock: Widespread occurrence of enrofloxacin and marbofloxacin in vultures. *Chemosphere* 144:1536-1543.
- [5] Sánchez-Barbudo, I.S., Camarero, P.R., Mateo, R. 2012. Intoxicaciones intencionadas y accidentales de fauna silvestre y doméstica en España: diferencias entre Comunidades Autónomas. *Revista de Toxicología* 29: 20-28.

**MR/TA-TV/03- DRUGS AND CHEMICAL PRODUCTS: HOW ENVIRONMENTAL RISKS ARE MANAGED AT EUROPEAN LEVEL - THE EU LEGAL FRAMEWORK**

**Ibáñez M**

*Product Safety pole - Corporate HSE (Solvay SA) Bruselas (Bélgica)*

It is well-known that during manufacturing and use of chemical substances, these can enter the environment via a number of pathways (ex. sewage treatment plant effluents or air releases), if exposure is not controlled. However, not all the substances are of same concern for the environment (not all are hazardous and not all are produced at high tonnage per year). To address first those chemicals of concern, European authorities have developed and implemented chemical legislations. The legislation currently in force at EU level (1) is known as “REACH” legislation. One of the main differences, compared to the previous one, is that chemical industry (whatever the position in the supply chain) has the responsibility of collecting information on the properties and the uses of substance that they manufacture or import. A “helicopter” view of the current regulatory requirements under “REACH” to assess environmental hazards and potential risks will be shown in the first part of this presentation. When thinking about environmental impact, chemical and biocidal products are often considered. However, there are other substances very active and widely used for which less societal concern arises: human medicinal products. European authorities have developed and implement legislation to address the lack of knowledge on the potential impact to the environment of the use of human medicinal products. Current EU legislation (2) will be introduced in the second part of this presentation. Thanks to both regulations, more and more data are available, helping to better understand the fate and potential long-term effects of chemicals and medicinal products for human use in the environment.

**Keywords:** environment, risk assessment, medicinal products, chemical products, European Commission

**References:**

- [1] REGULATION (EC) No 1907/2006 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH)
- [2] Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use