

EVALUACIÓN MUTAGÉNICA DE EXTRACTOS DE LODOS CON POTENCIAL USO AGRÍCOLA Y ENERGÉTICO

Eduardo de la Peña de Torres

Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Investigador del CSIC

Presidente de Honor de la AETOX

Coordinador de la *Red Iberoamericana de Toxicología y Seguridad Química RITSQ*

Miembro de Red Española de Métodos Alternativos a la Experimentación Animal REMA

c/ Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid – España

X X hijo de XII I

Instituto Alfonso X

Universidad de Navarra

1949



1960



1967



1972

CSIC

ISC III / CSIC

UCR

-?-
CSIC



1972-1975---1977-1979-1981--1996 2002-2015-.....

- 2019 -

UN CSIC IAPC ISCiii CSIC UCP UNC CSIC



Mi sincero agradecimiento
a la **Dra. Luz Helena Sánchez**
y al **Director de la Maestría en**
Ciencias Básicas Biomédicas
Universidad Industrial de Santander
Bucaramanga. Colombia

Apreciado Dr. Eduardo:

lunes 09/02/2015 15:32

Reciba un fraternal saludo.

En primer lugar, quiero manifestar que me dio mucha alegría saber que existe la posibilidad de que pueda venir a mi tierra, para mi sería un gran honor.

Desde el día que la Dra. Nancy me llamó, inicié los trámites para conseguir los recursos para su visita, inicialmente a través de la Vicerrectoría de Investigaciones, en la cual se deberían presentar los siguientes documentos:

Hoja de vida del par científico, Trayectoria académica de la institución de origen. • Plan de actividades del experto internacional.

Buscando otras alternativas, le planteé al director de la Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas la situación y me dijo que a través de un rubro de profesores visitantes que tiene el programa se podría realizar. Para esto debo entregar el plan de las actividades que ud desarrollaría, los objetivos y cuáles serían los profesores y estudiantes beneficiarios de esta visita. El director de la Maestría me dice que no es necesario que sean 3 días. El Comité de Maestría tiene reunión este martes a las 10 de la mañana, así que este día debería entregar el documento.

Las charlas podrían ser "[Desarrollo de los Métodos Alternativos a la Experimentación Animal en España y en la Unión Europea](#)" y "[Evaluación mutagénica de extractos de lodos con potencial uso agrícola y energético](#)". En cuanto a profesores y estudiantes beneficiarios de su visita podrían ser los profesores de Toxicología, Farmacología, Microbiología Ambiental y Genética, así como los estudiantes de las Maestrías en Química Ambiental y Ciencias Básicas Biomédicas, además los estudiantes de pregrado de la asignatura Toxicología Ambiental y Biotecnología.

Luz Helena Sánchez Rodríguez. Profesora Toxicología. Escuela de Microbiología. | Universidad Industrial de Santander

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA

es mejor *conocer* que un efecto tóxico **no existe**
que *ignorar* que un efecto tóxico **no existe**

REACH

la protección de la salud humana y del medio ambiente contra los riesgos
que pueden suponer las sustancias, mezclas y preparados químicos

 **CSIC**
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



Laboratorio de Mutagénesis Ambiental

Departamento Contaminación Ambiental

Grupo de Tratamiento y Reutilización de Residuos Orgánicos – Mutagénesis Ambiental

- ▶ Servicio General de Análisis
- ▶ Servicio de Microscopía Electrónica
- ▶ Servicio de Documentación y Biblioteca

Responsable

Investigadores:

1. César Plaza de Carlos (Científico Titular (Responsable de Grupo))
2. Eduardo de la Peña de Torres (Científico Titular)
3. José Manuel Fernández Arroyo (Investigador JAE-DOC)
4. María Teresa García González (Directora del ICA)
5. María Esther García López de Sal (Científico Titular)
6. Juan Carlos García-Gil Gallego (Científico titular)
7. Pedro Soler Rovira (Investigador Contratado)
8. M^a Cristina Zancada Fernández (Científico Titular)
9. Alfredo Polo Sánchez (Profesor de Investigación)

Técnicos:

1. Sagrario Fernández Casado
2. **Antonia Martínez López**



EVALUCION DEL RIESGO DE UN PRODUCTO QUÍMICO

Propiedades Físicos Químicas

Punto de Fusión

Densidad

Estructura Química

Otros datos Físico-Químicos

TOXICIDAD
para la Salud Humana

Carcinogenicidad

Mutagenicidad

Toxicidad para la Reproducción

Medio Ambiente
Ecotoxicología

Toxicidad para Peces

Toxicidad para Daphnia

DBO/DQO

Reglamento nº 1712/2008 sobre clasificación, etiquetado y
la quinta adaptación 944/2013 de 2 de octubre, establece los peligros
para la salud que deben ser considerados

Los Peligros para la Salud son los siguientes:

- 1. Toxicidad aguda**
2. Corrosión o irritación cutáneas
3. Lesiones oculares graves o irritación ocular
4. Sensibilización respiratoria o cutánea
- 5. Mutagenicidad en células germinales**
- 6. Carcinogenicidad**
7. Toxicidad para la reproducción
8. Toxicidad específica en determinados órganos (STOT) exposición única
9. Toxicidad específica en determinados órganos (STOT) exposición repetidas
10. Peligros por aspiración

ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS

1. Toxicidad aguda

Procedimientos:

Dosis fija.

Clase tóxica aguda

Arriba y abajo

Objetivo: clasificación por D_{L50} o efectos evidentes

Al menos dos especies (una roedora y otra no-roedora) y por dos vías de exposición, siendo obligatoria la oral.

Una sola exposición y 14 días de observación.

2. Capacidad irritante: dérmica y ocular

3. Capacidad sensibilizante

4. Capacidad corrosiva: dérmica y ocular

5. Toxicidad por exposición repetida o prolongada.

Tipos: Medio plazo (subcrónica) o dosis repetidas: 14, 28 ó 90 días.

Largo plazo (crónica): Mínimo 3 meses, 1-2 años.

Animales: Usualmente: 25 roedores y 6 perros por nivel de dosis.

Lotes: 2-4 niveles, según DL50, con 10 animales de cada sexo por nivel de dosis, como mínimo.

6. Carcinogenicidad

7. Mutagenicidad

Mutaciones génicas *in vivo*.

Daño cromosómico *in vitro*.

Efectos *in vivo*.

8. Toxicidad para la reproducción y el desarrollo:

Estudios multigeneracionales de reproducción: cribado, una generación y dos generaciones.

Estudios de toxicidad para el desarrollo.

Disrupción endocrina.

9. Toxicidad para el medio ambiente:

Ensayos en una especie: acuáticas y terrestres.

Ensayos de microcosmos.

Ensayos de macrocosmos.

Estudios de campo.

10. Cinética en el organismo y degradación en el medio ambiente:

Toxicocinética.

Degradación.

Bioconcentración.

11. Otros: Neurotoxicidad, comportamiento,

12. Propiedades fisicoquímicas.

Objetivos

Mutagenicidad y genotoxicidad

- B.10: mutagenicidad (método *in vitro* de aberraciones cromosómicas en células de mamífero)
- B.11: mutagenicidad (metodo *in vivo* de aberraciones cromosómicas en médula ósea de mamífero)
- B.12: mutagenicidad en mamíferos por el método de micronucleos
- B.13/14: mutagenicidad - ensayo de mutación reversa utilizando bacteria
- B.15: mutación génica – *Saccharomyces cerevisiae*
- B.16: recombinación mitótica – *Saccharomyces cerevisiae*
- B.17: mutagenicidad – ensayo *in vitro* de mutación genética en células de mamífero
- B.18: Daño y reparación del DNA – síntesis no secuencial de DNA . células de mamífero *in vitro*
- B.19: ensayo *in vitro* de intercambio de cromátidas hermanas
- B.20: ensayo del letal recesivo ligado al sexo en *Drosophila melanogaster*
- B.21: ensayo *in vitro* de transformación de células de mamífero
- B.22: ensayo de letal dominante en roedores
- B.23: ensayo de aberraciones cromosómicas en el esperma de mamíferos
- B.24: *spot test* en ratones
- B.25: translocación heredable en ratón
- B.39: ensayo *in vivo* de síntesis desordenada de DNA en células hígado mamífero

En los siguientes apartados se indican cuáles son los ensayos que deben realizarse y, si están incluidos en el Reglamento de métodos de ensayo, su referencia.

1. Ensayos de mutagenicidad hereditaria en células germinales *in vivo* tales como:
 - ensayo de letalidad dominante en roedores (B.22)
 - ensayo de translocación hereditaria en el ratón (B.25)

2. Ensayos de mutagenicidad en células somáticas *in vivo* tales como:
 - ensayo de aberraciones cromosómicas en médula ósea de mamífero (B.11)
 - ensayo de la mancha en el ratón (B.24)
 - ensayo de micronúcleos en eritrocitos de mamífero (B.12)

3. Ensayos de mutagenicidad o genotoxicidad en células germinales *in vivo* tales como:
 - (a) Ensayos de mutagenicidad:
 - ensayo de aberraciones cromosómicas en espermatogonias de mamífero (B.23)
 - ensayo de micronúcleos en espermátidas
 - (b) Ensayos de genotoxicidad:
 - ensayo de intercambio de cromátidas hermanas en espermatogonias
 - ensayo de síntesis de ADN no programada en células testiculares

4. Ensayos de genotoxicidad en células somáticas *in vivo* tales como:
 - ensayo de síntesis de ADN no programada en hepatocitos de mamífero *in vivo* (B.39)
 - ensayo de intercambio de cromátidas hermanas en médula ósea de mamífero

5. Ensayos de mutagenicidad *in vitro* tales como:
 - ensayo de aberraciones cromosómicas *in vitro* en mamíferos (B.10)
 - ensayo de mutación génica de células de mamífero *in vitro* (B.17)
 - ensayo de mutación inversa en bacterias (B.13/14)

The use of alternatives to testing on animals for the REACH Regulation

One of the main reasons for developing and adopting the REACH regulation was that a large number of chemical substances have been on the European market for many years, with only limited information available on their hazardous properties. It was considered that the gaps in the required information needed to be filled. This would allow industry to make better assessments of the risks posed by production and use of their substances, and to make sure there are adequate risk management measures to protect human health and the environment. To fill these gaps, new studies on chemical substances have to be conducted. Some of these are studies using experimental animals. However, there are several mechanisms in the regulation to avoid unnecessary testing on animals.

The European Chemicals Agency (ECHA) has analysed how companies provide information on the properties of their substances from the submitted registration dossiers. The analysis shows that the alternatives provided by REACH to testing on animals that REACH provides are being used and registrants so far are not carrying out unnecessary testing.

This document is a summary of the first report that the Agency is required to submit every three years to the European Commission, on how companies are using alternatives to testing on animals. Approximately 25 000 registration dossiers submitted by 28 February 2011 have been used as the main source of information for the report. The relevant information in the dossiers has been identified, extracted and analysed using specifically-developed data extraction tools. In addition, the data-sharing mechanisms – where companies making the same chemical share their data with one another – and proposals from companies to perform new tests have also been assessed.

HIGHER LEVEL OF PROTECTION

The REACH regulation aims for a high level of protection of human health and the environment from the potentially hazardous effects of chemicals. The legislation was the response to the perceived lack of information on the impact of chemicals used in daily life throughout Europe. Now, the regulation imposes a basic responsibility on companies to submit dossiers of information for each and every chemical substance that they manufacture or import at or above one tonne per year. The registrants must be able to demonstrate, using scientifically reliable data, that their chemicals can be used safely.

INFORMATION REQUIREMENTS

REACH spells out clearly the standard information required, which depends on the volume of a substance that is produced (or imported) in the EU. The volume is used as a way of measuring likely exposure, therefore the higher the tonnage produced or imported the more information that is required on the properties of the substance. Core data is required for all substances. For substances at or above 100 tonnes additional data from testing to identify long-term hazards may be required. The objective of the information requirements is to ensure a high level of protection of human health and the environment.

AVOIDING UNNECESSARY TESTING ON ANIMALS

Another principle of REACH is that the testing of chemical substances on animals should only be done as a last resort. The regulation provides a number of ways the companies registering substances can achieve this:

- sharing both new and existing data and submitting dossiers jointly with other companies;
- using alternatives to testing on animals to generate the necessary information;
- submitting testing proposals for new studies to investigate the properties for

which information is not yet available for substances at or above 100 tonnes.

OPTIONS TO FULFIL THE REACH INFORMATION REQUIREMENTS

- Methods to avoid the use of animals**
- Use of information on similar substances (Grouping and Read-across)
 - Information combined together from various sources (Weight of evidence)
 - Studies using cells, tissues or organs (*in vitro*)
 - Computer modelling (QSAR)

Other justifications for omitting studies

- For example, low exposure considerations

Animal studies

- Results from existing studies
- Conduct new studies as a last resort to fill data gaps in the core data essential for registration
- Testing proposals for new studies of long-term hazards for example carcinogenicity or reproductive toxicity for substances at or above 100 tonnes

*ECHA needs to agree before a test can be done

EXPERIENCE SO FAR

This report is the first that ECHA has provided on the use of alternatives to testing on animals since REACH came into effect. It uses the registration dossiers that have been submitted between 1 June 2008 and 28 February 2011 as its main source of information. The focus of the assessment is on dossiers submitted for substances at or above 100 tonnes per year with the highest data requirements. The companies registering these substances are required to provide the core registration data, any relevant data available from earlier testing on animals

and to make testing proposals for longer-term hazards, for which data are not yet available.

DATA SHARING

One core obligation in REACH is that different companies registering the same substance share their data from studies on (vertebrate) animals. This avoids unnecessary testing on animals by allowing all companies needing data for the same substance to use the data available in one of the companies instead of each carrying out their own studies.

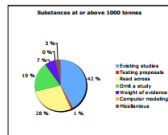
The results of the current analysis demonstrate that the data sharing mechanisms are working and that registrants used them extensively to fulfil their information requirements. Only a limited number of companies appeared to have used the opportunities for submitting data separately.

Another indication of the activity by industry regarding data sharing is when potential registrants make an inquiry to ECHA to find out if their substance has already been registered with a view to using the existing studies. The Agency has processed almost 1 500 inquiries made by potential registrants, and of these, about 50% have led to registration.

ALTERNATIVES TO NEW ANIMAL TESTING

Registrants made full use of the options available in REACH to use alternatives to carry out new tests on vertebrate animals.

- Registrants mainly used existing animal studies that had already been conducted before REACH
- Predicting the properties of substances by read-across (comparing one substance with another similar one where test data are already available) was the second most common means of fulfilling the information requirements.



REPEATED DOSE TOXICITY – OPTIONS USED TO FULFIL REACH INFORMATION REQUIREMENTS.

NEW TESTS

The report also provides the number of studies conducted for the purpose of REACH. These include both animal studies and *in vitro* studies that do not use animals but instead cells, tissues or organs to predict the hazardous properties of substances. The current analysis shows that in total 1 451 new *in vitro* studies and 1 849 new animal studies have been conducted since REACH entered into force. The majority of the new animal studies were to provide core data that is mandatory to submit a complete registration dossier. However, 107 studies on animals with a report date of 2009 or after appeared to have been conducted in the absence of testing proposals: The reason for this can be analysed during the evaluation process.

Type of experimental study	Total number*
New experimental studies using cells, tissues or organs	1 451
New experimental studies on animals	1 849
All new experimental studies	3 300

*Includes category dossiers covering many similar substances and dossiers covering only microdoses, which have greatly reduced information requirements

TESTING PROPOSALS

Registrants submitted testing proposals for additional data on vertebrate animals to fulfil their obligation for information on long-term hazards. The Agency needs to agree before such a new study can be conducted. In total so far, 574 registration dossiers included testing proposals:

- amounting to 1 175 individual tests;
- of which 711 were proposals for vertebrate animal studies.

PROPOSALS TO TEST ON VERTEBRATE ANIMALS

Test	Number of proposals
Repeated dose toxicity (oral)	121
Repeated dose toxicity (dermal)	6
Repeated dose toxicity (inhalation)	27
Genetic toxicity (<i>in vivo</i>)	25
Carcinogenicity	3
Toxicity to reproduction	231
Developmental toxicity	239
Bioaccumulation: aquatic / sediment	17
Long-term toxicity to fish	38
Long-term toxicity to birds	4
Total	711

The Agency received fewer testing proposals than had been anticipated based on previous estimates from the European Commission or from interested scientists. The reason for this appears to be that registrants have used other available options to fulfil the information requirements before resorting to making a testing proposal for new studies. The most common alternatives to testing used by registrants to fill data gaps were the grouping and read-across approaches; in other words, companies proposed to

conduct one study to cover more than one substance or to use existing data from related substances.

EVALUATION OF DOSSIERS

Although the evaluation of dossiers is at an early stage, it can be said that the justifications that registrants have provided, for the use of alternatives methods to fulfil information requirements, often fall short of what the legislation requires. As the registration data has to be of sufficient quality for classification and labelling, and for risk assessment it is inevitable that when the dossiers are checked for compliance the Agency will need to ask for some new animal tests to ensure that the information necessary for ensuring the safe use of chemicals is available, unless registrants can improve their scientific justifications.

The Agency will continue using the experience of the evaluation process to help registrants to produce better quality dossiers. This will include awareness raising on alternatives to testing on animals and the promotion of best practice on their use.

LINKS

This report summary is available in EU 22 languages.

The full report on the Use of Alternative to Test on Animals in REACH 2008 to 2011 can be downloaded here. The report is available only in English. It was published on 30 June 2011.

REACH Regulation EC No 1907/2006 Article 117(3)

• Article 117(3)

© European Chemicals Agency, 2011

Table of Figures

Figure 1: Schematic of data analysis for individual endpoints	21
Figure 2: Acute Toxicity.....	26
Figure 3: Skin irritation <i>in vitro</i>	27
Figure 4: Skin irritation <i>in vivo</i>	28
Figure 5: Eye irritation <i>in vitro</i>	29
Figure 6: Eye irritation <i>in vivo</i>	30
Figure 7: Skin sensitisation <i>in vivo</i>	31
Figure 8: Repeated dose toxicity – all routes, all study durations.....	33
Figure 9: Genetic toxicity <i>in vitro</i>	35
Figure 10: Genetic toxicity <i>in vivo</i>	36
Figure 11: Toxicity to reproduction	38
Figure 12: Developmental toxicity.....	39
Figure 13: Carcinogenicity.....	40
Figure 14: Bioaccumulation in fish	42
Figure 15: Short-term toxicity (fish).....	43
Figure 16: Long-term toxicity (fish).....	44
Figure 17: Long-term toxicity (birds).....	45
Figure 18: Relative proportions of the principal options to fulfil information requirements for human health endpoints for the substances.....	46
Figure 19: Relative proportions of the principal options to fulfil information requirements on environmental endpoints for the substances.....	48

OPTIONS TO FULFIL THE REACH INFORMATION REQUIREMENTS

Methods to avoid the use of animals

- Use of information on similar substances (Grouping and Read-across)
- Information combined together from various sources (Weight of evidence)
- Studies using cells, tissues or organs (*in vitro*)
- Computer modelling (QSAR)

Other justifications for omitting studies

- For example, low exposure considerations

Animal studies

- Results from existing studies
- Conduct new studies as a last resort to fill data gaps in the core data essential for registration
- Testing proposals for new studies of long-term hazards for example carcinogenicity or reproductive toxicity for substances at or above 100 tonnes *

*ECHA needs to agree before a test can be done

Substances at or above 1000 tonnes



REPEATED DOSE TOXICITY – OPTIONS USED TO FULFIL REACH INFORMATION REQUIREMENTS.

PROPOSALS TO TEST ON VERTEBRATE ANIMALS

Test	Number of proposals
Repeated dose toxicity (oral)	121
Repeated dose toxicity (dermal)	6
Repeated dose toxicity (inhalation)	27
Genetic toxicity (<i>in vivo</i>)	25
Carcinogenicity	3
Toxicity to reproduction	231
Developmental toxicity	239
Bioaccumulation: aquatic / sediment	17
Long-term toxicity to fish	38
Long-term toxicity to birds	4
Total	711

NUEVOS PICTOGRAMAS CLP



Contiene gas a presión; peligro de explosión en caso de calentamiento.

Contiene gas refrigerado; puede provocar quemaduras o lesiones criogénicas.



Explosivo inestable.

Explosivo, peligro de explosión en masa.

Explosivo, grave peligro de proyección.

Explosivo, peligro de incendio, de onda expansiva o de proyección.

Peligro de incendio o de proyección.

Peligro de explosión en caso de calentamiento.

Peligro de incendio o explosión en caso de calentamiento.



Puede provocar o agravar un incendio; comburente.

Puede provocar un incendio o una explosión; muy comburente.

Puede agravar un incendio; comburente.



Gas extremadamente inflamable.

Gas inflamable.

Aerosol extremadamente inflamable.

Aerosol inflamable.

Líquido y vapores extremadamente inflamables.

Líquido y vapores muy inflamables.

Líquido y vapores inflamables.

Sólido inflamable.

Peligro de incendio o explosión en caso de calentamiento.

Peligro de incendio en caso de calentamiento.

Se inflama espontáneamente en contacto con el aire.

Se calienta espontáneamente; puede inflamarse.

Se calienta espontáneamente en grandes cantidades; puede inflamarse.

En contacto con el agua desprende gases inflamables que pueden inflamarse espontáneamente.

En contacto con el agua desprende gases inflamables.



Mortal en caso de ingestión.

Mortal en contacto con la piel.

Mortal en caso de inhalación.

Tóxico en caso de ingestión.

Tóxico en contacto con la piel.

Tóxico en caso de inhalación.



Puede irritar las vías respiratorias.

Puede provocar somnolencia o vértigo.

Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Provoca irritación ocular grave.

Provoca irritación cutánea.

Nocivo en caso de ingestión.

Nocivo en contacto con la piel.

Nocivo en caso de inhalación.

Causa daños a la salud pública y al medio ambiente por destruir el ozono en la atmósfera superior.



Puede ser corrosivo para los metales.

Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Provoca lesiones oculares graves.



Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias.

Provoca daños en los órganos.

Puede provocar daños en los órganos.

Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto.

Se sospecha que perjudica la fertilidad o daña al feto.

Puede provocar cáncer.

Se sospecha que provoca cáncer.

Puede provocar defectos genéticos.

Se sospecha que provoca defectos genéticos.

Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.



Muy tóxico para los organismos acuáticos.

Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos duraderos.

Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos duraderos.

ANTIGUOS SÍMBOLOS DE PELIGRO

Con la aplicación de las nuevas disposiciones de clasificación, etiquetado y envasado, desaparecen los símbolos de peligro conformes al Real Decreto 363/1995, de 10 de marzo.



PRINCIPALES DIFERENCIAS

El reglamento CLP introduce una serie de diferencias respecto a la legislación anterior, destacando, entre otras:

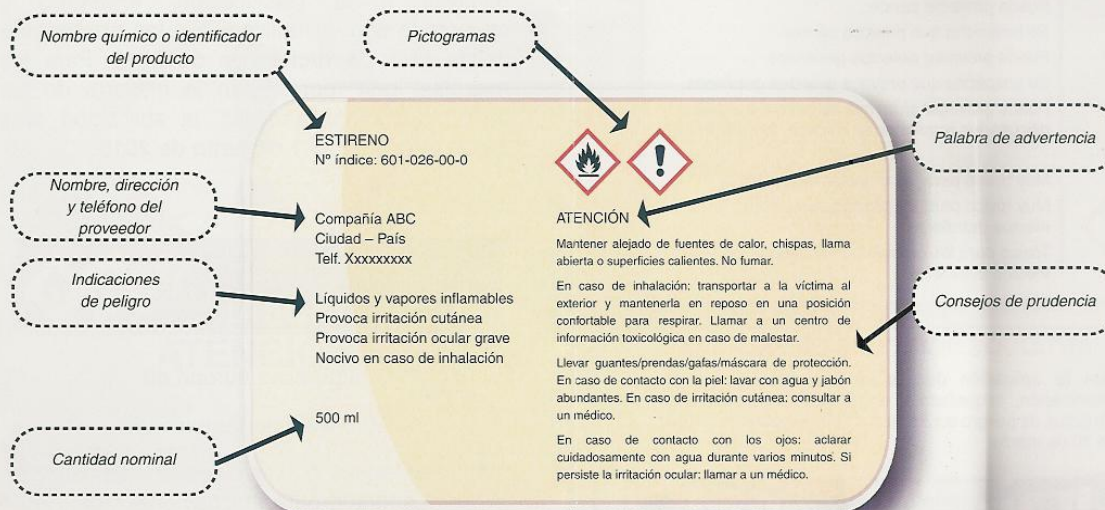
- Nuevos criterios para la clasificación de sustancias y mezclas en nuevas clases y categorías de peligro.
- Sustitución de las frases de riesgo y las frases de prudencia por las nuevas indicaciones de peligro y consejos de prudencia, respectivamente.
- Sustitución de los símbolos de peligro por los nuevos pictogramas.
- Nuevas palabras de advertencia:
Atención y Peligro.

NUEVAS ETIQUETAS

El reglamento CLP prevé la etiqueta como la herramienta para comunicar información correcta y completa sobre los peligros y el uso seguro de las sustancias y mezclas.

Los elementos de las nuevas etiquetas según CLP son:

- Nombre, dirección, número de teléfono del proveedor o proveedores.
- Cantidad nominal de la sustancia o mezcla.
- Identificadores del producto.
- Pictogramas de peligro.
- Palabras de advertencia.
- Indicaciones de peligro (H).
- Consejos de prudencia (P).
- Información suplementaria (si procede).



Información importante sobre cookies: El Sitio Web del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad utiliza cookies propias para mejorar la navegación. Las cookies utilizadas no contienen ningún tipo de información de carácter personal. Si continua navegando entendemos acepta su uso. Dispone de más información acerca de las cookies y cómo impedir su uso en nuestra Política de cookies. Aceptar

Bienvenidos Benvinguts Ongi etorri Benvidos Benvinguts Welcome Bienvenue



Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad



Buscar Aceptar

Mapa Web Contactar

- Organización Institucional
- Ciudadanos
- Profesionales
- Biblioteca y Publicaciones
- Portal Estadístico del SNS
- Proyectos normativos
- Servicios Sociales e Igualdad
- Servicios al Ciudadano
- Sede Electrónica

- Protección de la salud
- Enfermedades
- Salud mental
- Accidentes y lesiones
- Violencia y Salud
- Enfermedades raras
- Seguridad del paciente
- Asociaciones de enfermos y familiares
- Salud ambiental y laboral**
- Prestaciones y centros sanitarios
- Información administrativa
- Registro Nacional de Instrucciones Previas
- Posible sustracción de recién nacidos

Inicio > Ciudadanos > Salud ambiental y laboral >

Productos Químicos

- Introducción
- Legislación
- Clasificación, Etiquetado y Envasado de Sustancias y Mezclas (Reglamento CLP)
- REACH (Registro, evaluación, autorización y restricción de las sustancias químicas)
- Biocidas
- Red Nacional Toxicovigilancia
- Piscinas
- Programa de cumplimiento de las Buenas Prácticas de Laboratorio (Sustancias Químicas Industriales) pdf
- Jornada Técnica sobre Clasificación, Etiquetado y Envasado de Sustancias y Mezclas. Presentaciones
- Jornada CLP 2015: Hacia un uso seguro de las mezclas (15 de octubre de 2014).

En cumplimiento de la disposición adicional primera del Real Decreto 1802/2008, de 3 de noviembre, por el que se modifica el Reglamento sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas, aprobado por Real Decreto 363/1995, de 10 de marzo, con la finalidad de adaptar sus disposiciones al Reglamento (CE) n.º 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo (Reglamento REACH), modificado por el Reglamento (CE) 453/2010 de la Comisión, el proveedor de una sustancia o preparado deberá entregar una copia de la ficha de datos de seguridad al Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad, preferiblemente de forma electrónica a través de los mecanismos que la Administración facilite para este fin.

Con el fin de facilitar esta obligación, se ha creado un buzón de correo electrónico (fspqp@msssi.es) donde podrán ser remitidas tales documentos

Resumen de los Ensayos de Toxicidad

I. Propiedades Físico-Químicas

II. Exposición y hecho ambiental

- Estudios de degradación, degradación en suelo, movilidad y disipación, acumulación en plantas, animales acuáticos, animales terrestres silvestres, alimentos vegetales y animales.

III. Ensayos *in vitro*

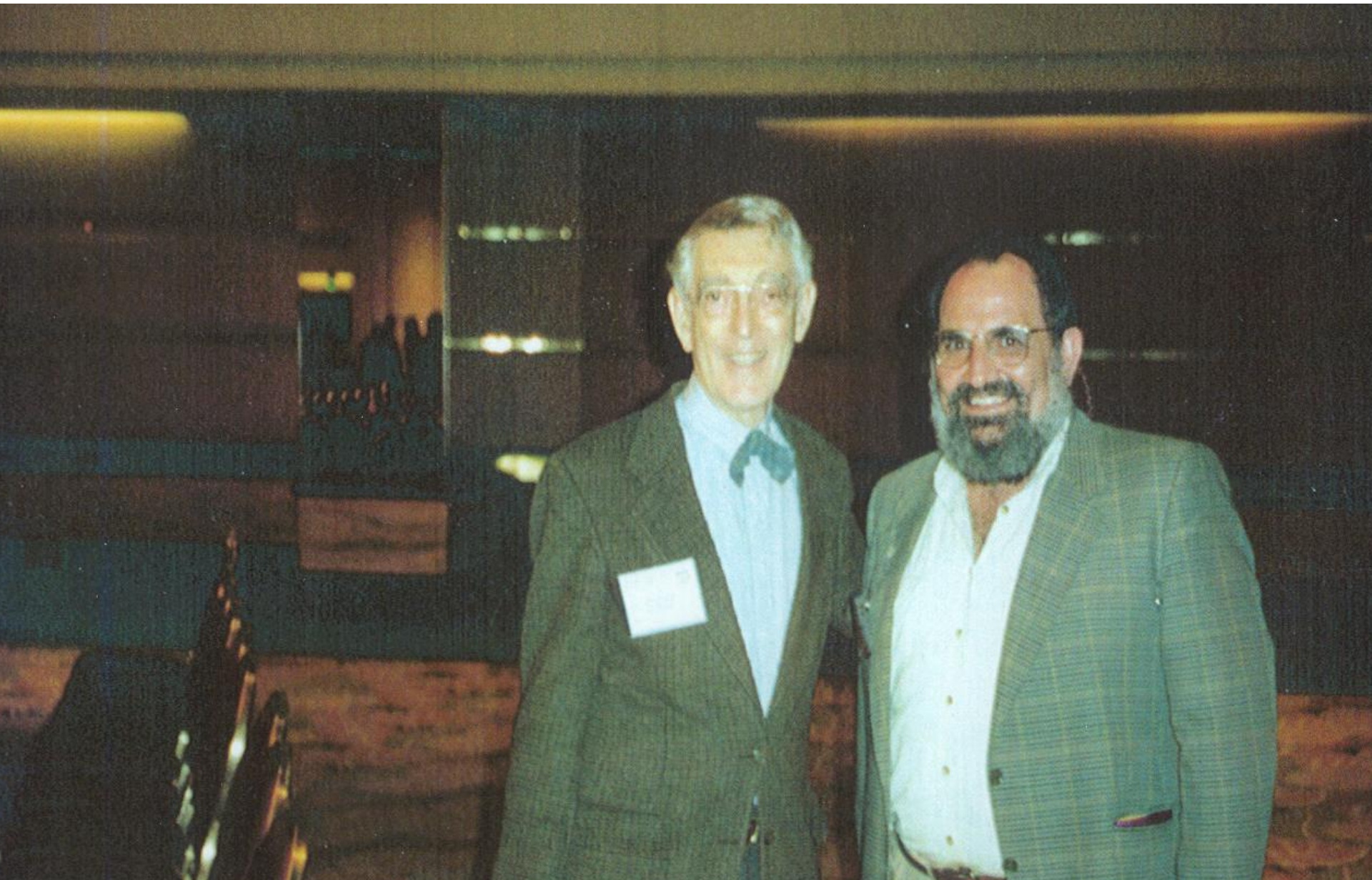
- Mutagenicidad prokariontes (*Salmonella typhimurium*)
- Eukariontes (*Drosophila*, ratón.)
- **Células mamífero:** Aberraciones cromosómicas, SCE y MNs.

IV. Ensayos *in vivo*

- *DL50*, irritación ocular, dermal y sensibilización
- Subcrónica (30 - 90 días)
- Crónica/Reproducción
- Ensayos espaciales - Neurotoxicidad, Potenciación, Metabolismo, Farmacodinámica y Comportamiento

Evaluación Genotóxica

Salmonella typhimurium/microsomal



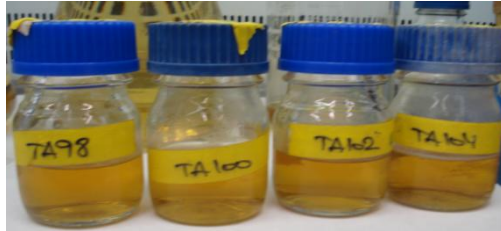
Evaluación Genotóxica - *test de Ames* *Salmonella typhimurium*/microsoma

Dr. Bruce N. Ames



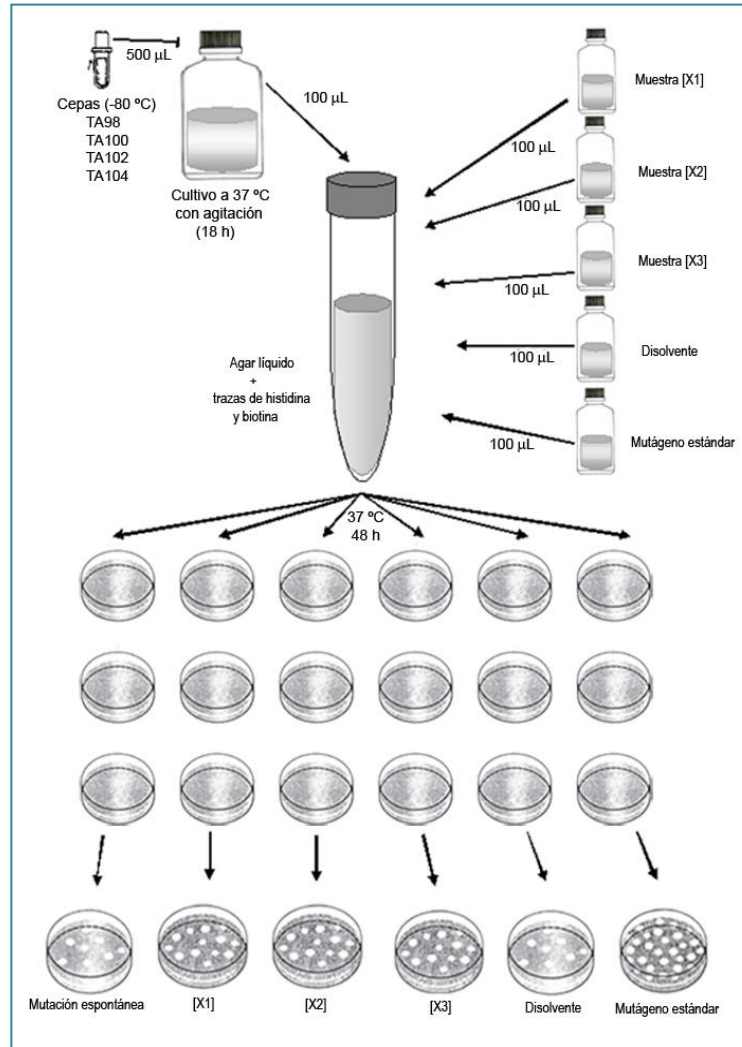
INCORPORACIÓN EN PLACA ESTÁNDAR

M
E
T
O
D
O
L
O
G
Í
A

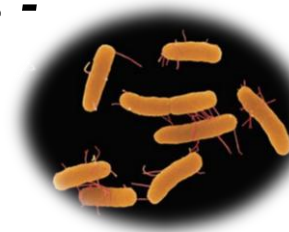


TA98
TA100
TA102
TA104

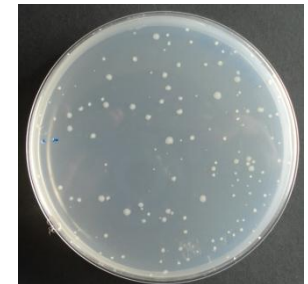
4 Nitroquinolina oxidasa
Metil metano sulffonato
Metil metano sulffonato
Metil Glioxal



His -



Incubación
48 horas
37°C

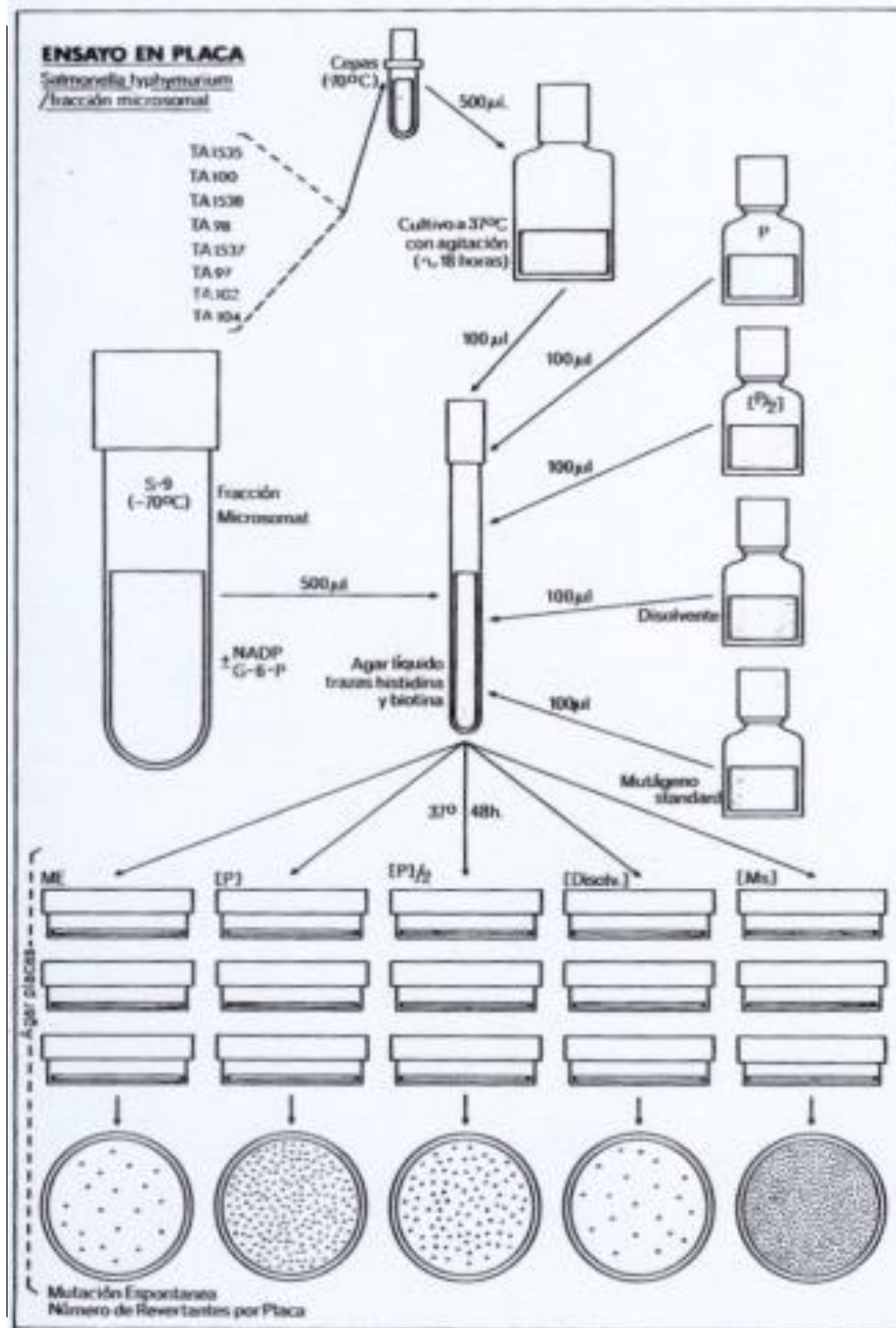


PROTOCOLO

- El día anterior al ensayo se prepara:
 - Las placas de agar mínimo (cuando están sólidas se introducen en la nevera invertidas o se dejan a temperatura ambiente en el laboratorio).
 - El agar líquido.
 - El medio M.
 - El medio de nutrient broth.
 - El **cultivo de noche**: por cada cepa de *S. typhimurium* que se va a utilizar se añaden 0,5 ml (500µl) del criotubo a un frasco con 50 ml de nutrient broth. Se deja crecer el cultivo en el baño a 37°C con agitación, 16 horas y en oscuridad (papel de aluminio).
- El día del ensayo:
 - Se añaden 10 ml del medio M por cada 100 ml de agar líquido preparado (en el caso de realizar el ensayo con ≈ 40 placas se añadirán 9 ml de medio M en los 90 ml de agar líquido preparado; si en el ensayo se van a utilizar ≈ 20 placas, se añadirán 4,5 ml de medio M en los 45 ml de agar líquido preparado). Para licuar el agar líquido se puede autoclavar a 90°C ≈ 10'.
 - Se añade 2 ml de la mezcla (agar líquido + medio M) por cada tubo estéril que se va a utilizar en el ensayo y éstos se van introduciendo en el baño a 50°C-60°C para que el agar no solidifique.
- El ensayo de mutagenicidad se realiza por **triplicado por cada cepa de Salmonella**, por tanto, el número de placas por cepa y ensayo será:
 - 1 cepa x 4 ensayos de reversión x triplicado (1 x 4 x 3) → **12 PP** (≈ 15 PP)
 - 2 cepas x 4 ensayos de reversión x triplicado (2 x 4 x 3) → **24 PP** (≈ 30 PP)
 - 3 cepas x 4 ensayos de reversión x triplicado (3 x 4 x 3) → **36 PP** (≈ 40 PP)

Reversiones	Agar líquido + M	Cultivo de noche	Solvente	Mutágeno estándar	Producto problema
R. espontánea	2 ml	100 µl	—	—	—
R. solvente	2 ml	100 µl	100 µl	—	—
R. mutágeno estándar	2 ml	100 µl	—	100 µl	—
R. producto problema	2ml	100 µl	—	—	100 µl

- Reversión espontánea:** Se añade 0,1 ml (100 µl) de cultivo de noche al tubo con los 2 ml del agar líquido + medio M, se mezcla bien en el agitador y se distribuye homogéneamente por la placa de agar mínimo.
- Reversión del solvente (DMSO o en el que venga el producto problema):** Se añade 0,1 ml de cultivo de noche al tubo con los 2 ml del agar líquido + medio M, se mezcla bien en el agitador. A continuación se añade 0,1 ml del solvente, se mezcla bien en el agitador y se distribuye homogéneamente por la placa de agar mínimo.
- Reversión del mutágeno estándar:** Se añade 0,1 ml de cultivo de noche al tubo con los 2 ml del agar líquido + medio M, se mezcla bien en el agitador. A continuación se añade 0,1 ml del mutágeno estándar, se mezcla bien en el agitador y se distribuye homogéneamente por la placa de agar mínimo.



AGAR MÍNIMO

Producto	Cantidad (20 ml /placa)			
	1000 ml	40 PP (900 ml)	30 PP (700 ml)	20 PP (450 ml)
Agar	15 g	13,5 g	10,5 g	6,75 g
Agua destilada	930 ml	837 ml	651 ml	418,5 ml
Vogel-Bonner(50X)	20 ml	18 ml	14 ml	9 ml
Glucosa (40%)	50 ml	45 ml	35 ml	22,5 ml

Preparación:

- En un matraz esmeril de 2 litros con barra magnética mezclar el agar y el agua destilada.
- Autoclavar a 120°C-20 minutos.
- Cuando se haya enfriado un poco añadir en la campana el VB y la glucosa.
- Agitar
- Distribuir 20 ml /placa.

Uso: ensayos de mutagenicidad

Duración/conservación del medio: unos 10 días en nevera

VOGEL-BONNER (50X)

Producto	Cantidad 1000 ml
Agua destilada (45°C)	670 ml
Sulfato magnésico hidratado MgSO ₄ .7H ₂ O	10 g.
Ácido cítrico monohidratado	100 g.
Fosfato potásico K ₂ HPO ₄	500 g.
Fosfato amónico sódico hidratado NaH ₂ NH ₄ PO ₄ .4H ₂ O	175 g

Preparación:

- Añadir las sales en el orden indicado en un matraz de 2 litros situado en una placa calentadora y con agitación magnética (o meterlo un poco en el baño redondo).
- Disolver cada sal antes de añadir la siguiente. No importa si no se deshace del todo.
- Ajustar el volumen a 1 litro.
- Distribuir en dos botellas de un litro.
- Autoclavar a 120°C-20 minutos.

Uso: agar mínimo

Duración del medio: meses en nevera

GLUCOSA 40%

Producto	Cantidad			
	100 ml	40 PP	30 PP	20 PP
Glucosa	40 g	18 g	14g	9 g
Agua destilada	100 ml	45 ml	35 ml	22,5 ml

Preparación:

- En un frasco mezclar la glucosa y casi todo el agua destilada.
- Autoclavar a 120°C-20 minutos.
- Añadir en la campana el resto del agua destilada estéril.

Uso: ensayos de mutagenicidad

Duración/conservación del medio: se prepara en cada ensayo

NUTRIENT BROTH

Producto	Cantidad (50 ml /frasco/cepa)			
	1000 ml	3 cepas (200 ml)	2 cepas (150 ml)	1 cepa (75 ml)
Nutrient Broth	8 g	1,6 g	1,2 g	0,6 g
Cloruro sódico (ClNa)	5 g	1 g	0,75 g	0,375 g
Agua destilada	1000 ml	200 ml	150 ml	75 ml

Preparación:

- En un frasco mezclar el agua destilada, el NB (que se disuelve en un baño maría o con barra magnética) y el ClNa.
- Autoclavar a 120°C-20 minutos.
- Dejar a temperatura ambiente en la campana hasta su utilización.

Uso: crecimiento de cultivos de noche.

Duración/conservación del medio: 24 horas en nevera

AGAR LÍQUIDO

Producto	Cantidad (2 ml /placa)			
	1000 ml	40 PP (90 ml)	30 PP (65 ml)	20 PP (45 ml)
Agar	6 g	0,54 g	0,39 g	0,27 g
Cloruro sódico (ClNa)	5 g	0,45 g	0,325 g	0,225 g
Agua destilada	1000 ml	90 ml	65 ml	45 ml

Preparación:

- En un frasco mezclar el agar, que se disuelve en un baño maría o con barra magnética, el ClNa y el agua destilada.
- Autoclavar a 120°C-20 minutos.

Uso: ensayos de mutagenicidad.

Duración/conservación del medio: se puede dejar a temperatura ambiente hasta que se vaya a utilizar. Se prepara en cada ensayo.

MEDIO M

Producto	Cantidad (hacer siempre 125 ml)
D-Biotina	0,01525 g
L-Histidina	0,012 g
Agua destilada	125 ml

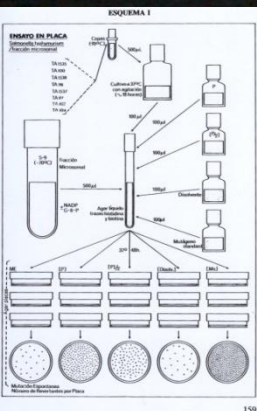
Preparación:

- Es más importante la exactitud en el peso de la histidina que en el de la biotina.
- En un frasco añadir los productos.
- Disolver la biotina calentando el agua.
- Autoclavar a 120°C-20 minutos.

Uso: ensayo de mutagenicidad (10ml/100ml de agar líquido).

Duración/conservación del medio: dura dos semanas en nevera





Test de Ames

Salmonella typhimurium his-

TA98, TA1537, TA100, TA102, TA104
Presencia o Ausencia de un sistema de
activación metabólica (S9)

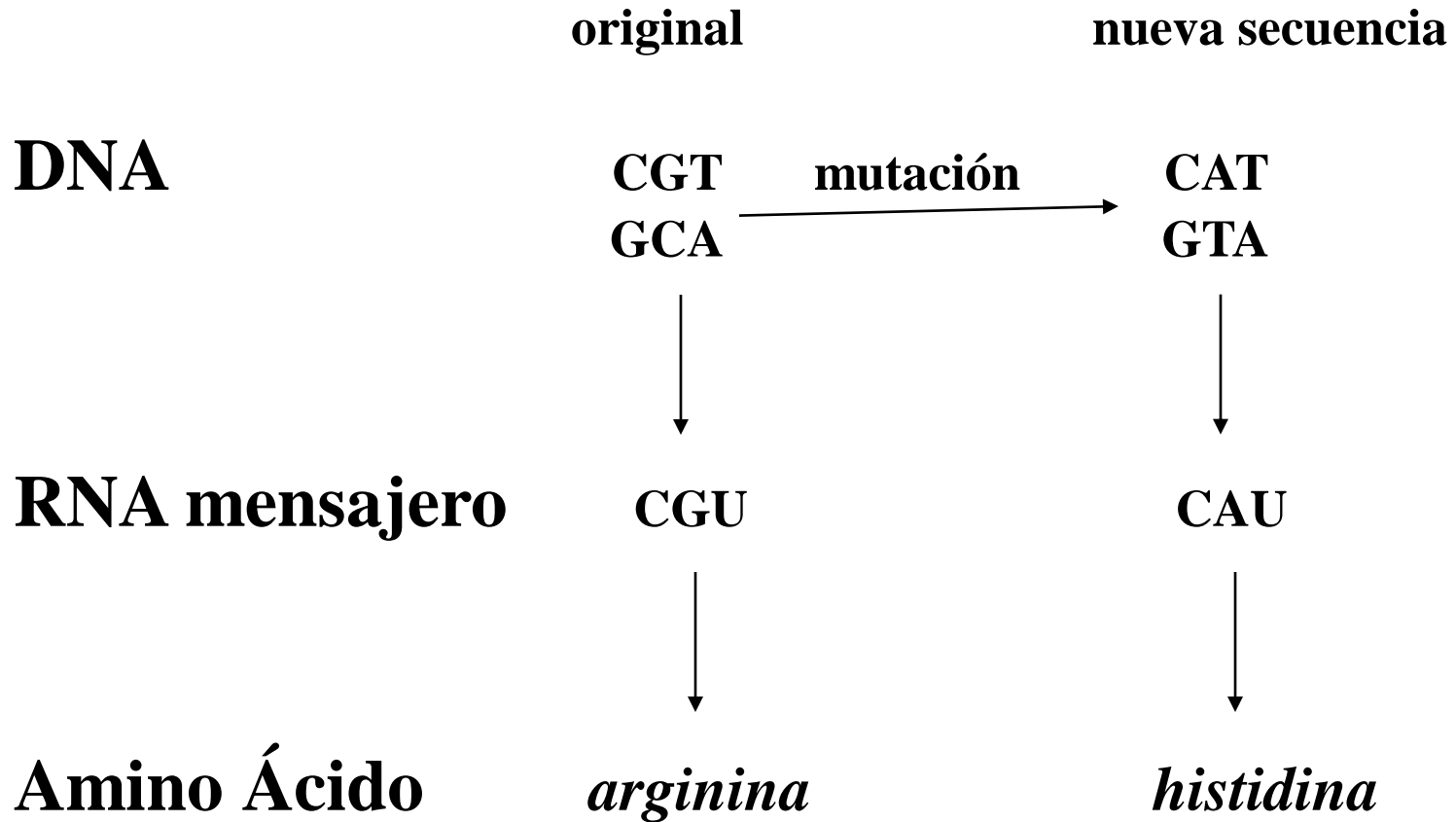
Ensayos por triplicado

Un compuesto es mutagénico cuando induce 2 veces el número de revertientes respecto al control en 3 concentraciones forma dosis-dependiente

Control positivo un mutágeno estandar (NQO, MMS)



Consecuencia de la Mutación Puntual





LA POVEDA
Arganda del Rey
(Madrid)

53,4 m

2 m

31 m

9 m

13 parcelas experimentales:

- T** *Testigo sin fertilizar*
- P1** *Dosis normal de purín*
- P3** *Dosis triple de purín*
- P5** *Dosis quintuple de purín*
- U** *Urea como testigo fertilizado*
-  *Caña de succión a 50 cm*
-  *Caña de succión a 90 cm*
-  *Caña de succión a 140 cm*
-  *Sonda TDR, sonda T^a y tensiómetros*





TA98-S9

TA98+S9

T1	1	2	3	4	Media	SD	1	2	3	4	Media	SD
Control	28	24	13	25	22,5	6,6	30	21	26	25	25,7	3,2
Mutágeno estándar	337	361	212		303,3	80,0	275	284	265		274,7	9,5
Testigo (32.1)	30	22	20		21,0	1,4	30	39	19	30	29,3	10,0
5P50 100%	22	29	27		26,0	3,6	22	20	22		21,3	1,2
5P50 75%	29	15	22		22,0	7,0	27	20	28		25,0	4,4
5P50 50%	28	27	25	19	24,8	4,0	27	29	28	19	28,0	1,0
Metanol	21	20	27		22,7	3,8						

TA100-S9

TA100+S9

T1	1	2	3	4	Media	SD	1	2	3	4	Media	SD
Control	132	134	172	149	146,8	18,5	154	177	160	149	163,7	11,9
Mutágeno estándar	3658	4469	1490		3205,7	1540,2	674	566	565		601,7	62,6
Testigo (43.1)	151	150	144		148,3	3,8	140	168	165		157,7	15,4
5P50 100%	168	147	133		149,3	17,6	152	164	168		161,3	8,3
5P50 75%	141	127	160		142,7	16,6	145	168	171		161,3	14,2
5P50 50%	102	133	119		118,0	15,5	175	173	172		173,3	1,5
Metanol	121	137	126		128,0	8,2						

TA98-S9

TA98+S9

T3	1	2	3	4	Media	SD	1	2	3	Media	SD
Control	16	23	25	25	21,3	4,7	26	16	21	21,0	5,0
Mutágeno estándar	177	93			135,0	59,4	461	320		390,5	99,7
Testigo (11.1)	14	16	26	30	18,7	6,4	33	28	27	29,3	3,2
5P50	26	25	34		28,3	4,9	28	26	27	27,0	1,0
5P140	27	24	33		28,0	4,6	32	18	29	26,3	7,4

TA100-S9

TA100+S9

T3	1	2	3	4	Media	SD	1	2	3	Media	SD
Control	194	190	160	25	181,3	18,6	156	194	162	170,7	20,4
Mutágeno estándar	4124	3906			4015,0	154,1	978	978		978,0	0,0
Testigo (11.1)	195	183	152	30	176,7	22,2	186	167	178	177,0	9,5
5P50	151	166	179		165,3	14,0	169	158	162	163,0	5,6
5P140	160	227	130		172,3	49,7	143	123	129	131,7	10,3



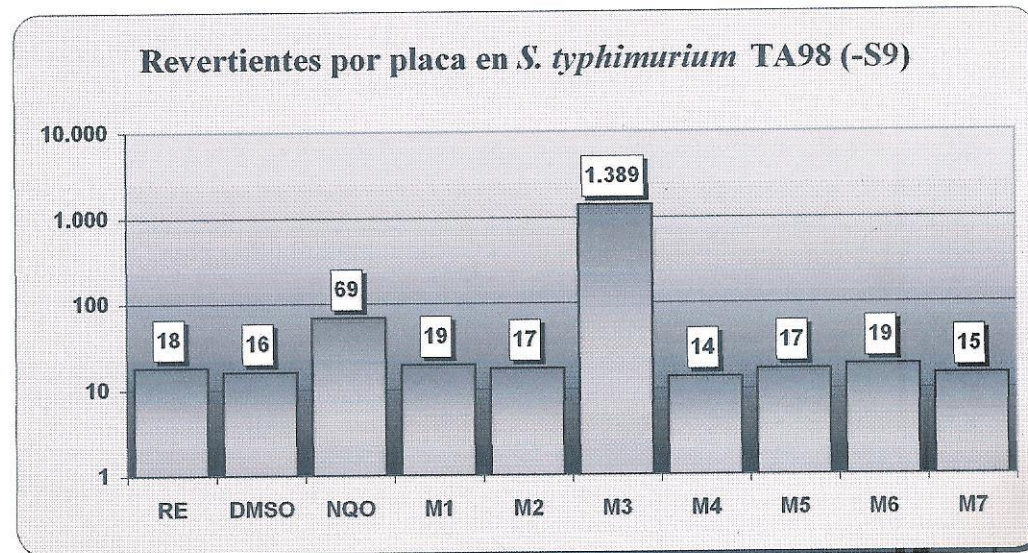
Test de Mutagenicidad (Ames)

Número de revertientes por placa (R/PP) a las 48 horas en *Salmonella typhimurium*

MUESTRAS		TA98 (-S9)						
		Número de revertientes			Estadísticos		Efecto Mutagénico	
		Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media	Desv. Est.	Índice de mutación	Clasificación
Rev. Espontánea	RE	17	17	20	18	1.73	0.0	NM
Rev. con DMSO	DMSO	15	12	21	16	4.58	-0.1	NM
Rev. con Mutágeno Estándar	NQO	59	95	53	69	22.72	2.8	M1
LT 2002	M1	16	20	22	19	3.06	0.1	NM
LT 2004	M2	11	19	22	17	5.69	0.0	NM
LC 2002	M3	1.282	1.350	1.536	1.389	131.49	76.2	M4
LC 2004	M4	11	14	16	14	2.52	-0.2	NM
Compost 2002	M5	17	13	21	17	4.00	-0.1	M4
Compost 2004	M6	16	21	20	19	2.65	0.1	NM
Papel	M7	16	11	17	15	3.21	-0.2	NM

- M1 - Lodo compostado 1
- M2 - Lodo Compostado 2
- M3 - Lodo deshidratado en maduración
- M4 - Lodo deshidratado muy maduro
- M5 - Compost muy maduro
- M6 - Compost en proceso de maduración
- M7 - Compos neutro

Cuantificación del Efecto Mutagénico		
Abreviatura	Definición	Índice de mutación
NM	No mutagénico	< 2,5
M ¹	Mutagénico muy débil	2,5-3,5
M ²	Mutagénico débil	3,6-5,5
M ³	Mutagénico	5,6-10,5
M ⁴	Mutagénico alto	> 10,5
T	Efecto tóxico	Colonias pequeñas o ausencia de césped
T ^M	Toxicidad máxima	No existe crecimiento bacteriano



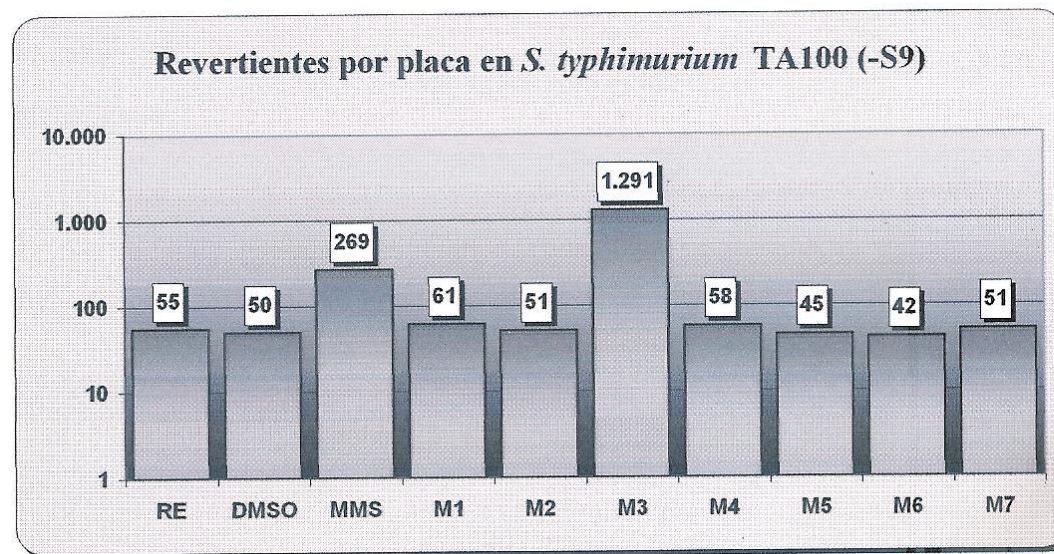
Test de Mutagenicidad (Ames)

Número de revertientes por placa (R/PP) a las 48 horas en *Salmonella typhimurium*

MUESTRAS		TA100 (-S9)					Efecto Mutagénico	
		Número de revertientes			Estadísticos		Índice de mutación	Clasificación
		Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media	Desv. Est.		
Rev. Espontánea	RE	49	60	56	55	5,57	0,0	NM
Rev. con DMSO	DMSO	41	55	53	50	7,57	-0,1	NM
Rev. con Mutágeno Estándar	MMS	215	277	315	269	50,48	3,9	M2
LT 2002	M1	53	74	56	61	11,36	0,1	NM
LT 2004	M2	50	54	50	51	2,31	-0,1	NM
LC 2002	M3	1.352	1.148	1.374	1.291	124,62	22,5	M4
LC 2004	M4	60	64	49	58	7,77	0,0	NM
Compost 2002	M5	45	42	48	45	3,00	-0,2	NM
Compost 2004	M6	40	39	48	42	4,93	-0,2	NM
Papel	M7	60	36	57	51	13,08	-0,1	NM

- M1 - Lodo compostado 1
- M2 - Lodo Compostado 2
- M3 - Lodo deshidratado en maduración
- M4 - Lodo deshidratado muy maduro
- M5 - Compost muy maduro
- M6 - Compost en proceso de maduración
- M7 - Compos neutro

Cuantificación del Efecto Mutagénico		
Abreviatura	Definición	Índice de mutación
NM	No mutagénico	< 2,5
M ¹	Mutagénico muy débil	2,5-3,5
M ²	Mutagénico débil	3,6-5,5
M ³	Mutagénico	5,6-10,5
M ⁴	Mutagénico alto	> 10,5
T	Efecto tóxico	Colonias pequeñas o ausencia de césped
T ^M	Toxicidad máxima	No existe crecimiento bacteriano



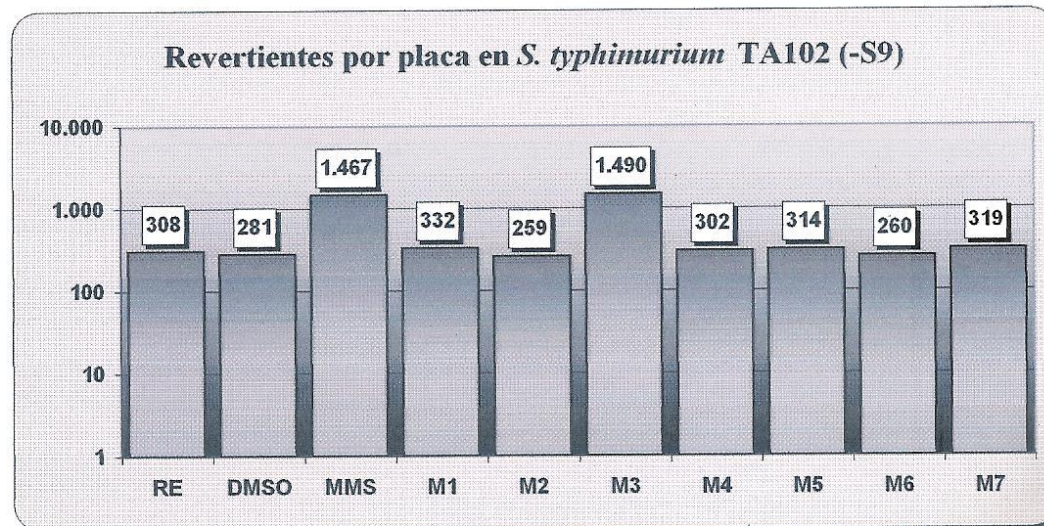
Test de Mutagenicidad (Ames)

Número de revertientes por placa (R/PP) a las 48 horas en *Salmonella typhimurium*

MUESTRAS		TA102 (-S9)						
		Número de revertientes			Estadísticos		Efecto Mutagénico	
		Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media	Desv. Est.	Índice de mutación	Clasificación
Rev. Espontánea	RE	316	316	292	308	13,86	0,0	NM
Rev. con DMSO	DMSO	281	277	284	281	3,51	-0,1	NM
Rev. con Mutágeno Estándar	MMS	1.448	1.390	1.564	1.467	88,60	3,8	M2
LT 2002	M1	351	321	323	332	16,77	0,1	NM
LT 2004	M2	277	269	232	259	24,01	-0,2	NM
LC 2002	M3	1.668	1.660	1.142	1.490	301,40	3,8	M2
LC 2004	M4	310	332	263	302	35,25	0,0	NM
Compost 2002	M5	330	292	321	314	19,86	0,0	NM
Compost 2004	M6	247	291	243	260	26,63	-0,2	NM
Papel	M7	324	328	306	319	11,72	0,0	NM

- M1 - Lodo compostado 1
- M2 - Lodo Compostado 2
- M3 - Lodo deshidratado en maduración
- M4 - Lodo deshidratado muy maduro
- M5 - Compost muy maduro
- M6 - Compost en proceso de maduración
- M7 - Compos neutro

Cuantificación del Efecto Mutagénico		
Abreviatura	Definición	Índice de mutación
NM	No mutagénico	< 2,5
M ¹	Mutagénico muy débil	2,5-3,5
M ²	Mutagénico débil	3,6-5,5
M ³	Mutagénico	5,6-10,5
M ⁴	Mutagénico alto	> 10,5
T	Efecto tóxico	Colonias pequeñas o ausencia de césped
T ^M	Toxicidad máxima	No existe crecimiento bacteriano



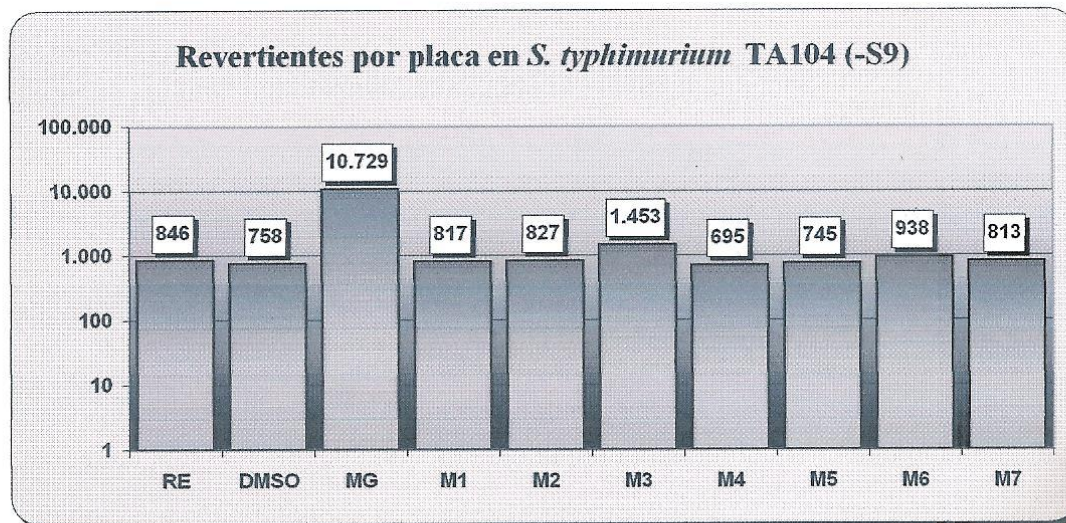
Test de Mutagenicidad (Ames)

Número de revertientes por placa (R/PP) a las 48 horas en *Salmonella typhimurium*

MUESTRAS		Número de revertientes			Estadísticos		Efecto Mutagénico	
		Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media	Desv. Est.	Índice de mutación	Clasificación
Rev. Espontánea	RE	874	808	856	846	34,12	0,0	NM
Rev. con DMSO	DMSO	720	770	784	758	33,65	-0,1	NM
Rev. con Mutágeno Estándar	MG	10.320	11.025	10.841	10.729	365,68	11,7	M4
LT 2002	M1	812	804	834	817	15,53	0,0	NM
LT 2004	M2	750	854	876	827	67,30	0,0	NM
LC 2002	M3	1.320	1.548	1.492	1.453	118,82	0,7	NM
LC 2004	M4	693	681	710	695	14,57	-0,2	NM
Compost 2002	M5	758	715	762	745	26,06	-0,1	NM
Compost 2004	M6	902	768	1.144	938	190,57	0,1	NM
Papel	M7	842	762	834	813	44,06	0,0	NM

Cuantificación del Efecto Mutagénico		
Abreviatura	Definición	Índice de mutación
NM	No mutagénico	< 2,5
M ¹	Mutagénico muy débil	2,5-3,5
M ²	Mutagénico débil	3,6-5,5
M ³	Mutagénico	5,6-10,5
M ⁴	Mutagénico alto	> 10,5
T	Efecto tóxico	Colonias pequeñas o ausencia de césped
T ^M	Toxicidad máxima	No existe crecimiento bacteriano

- M1 - Lodo compostado 1
- M2 - Lodo Compostado 2
- M3 - Lodo deshidratado en maduración
- M4 - Lodo deshidratado muy maduro
- M5 - Compost muy maduro
- M6 - Compost en proceso de maduración
- M7 - Compos neutro



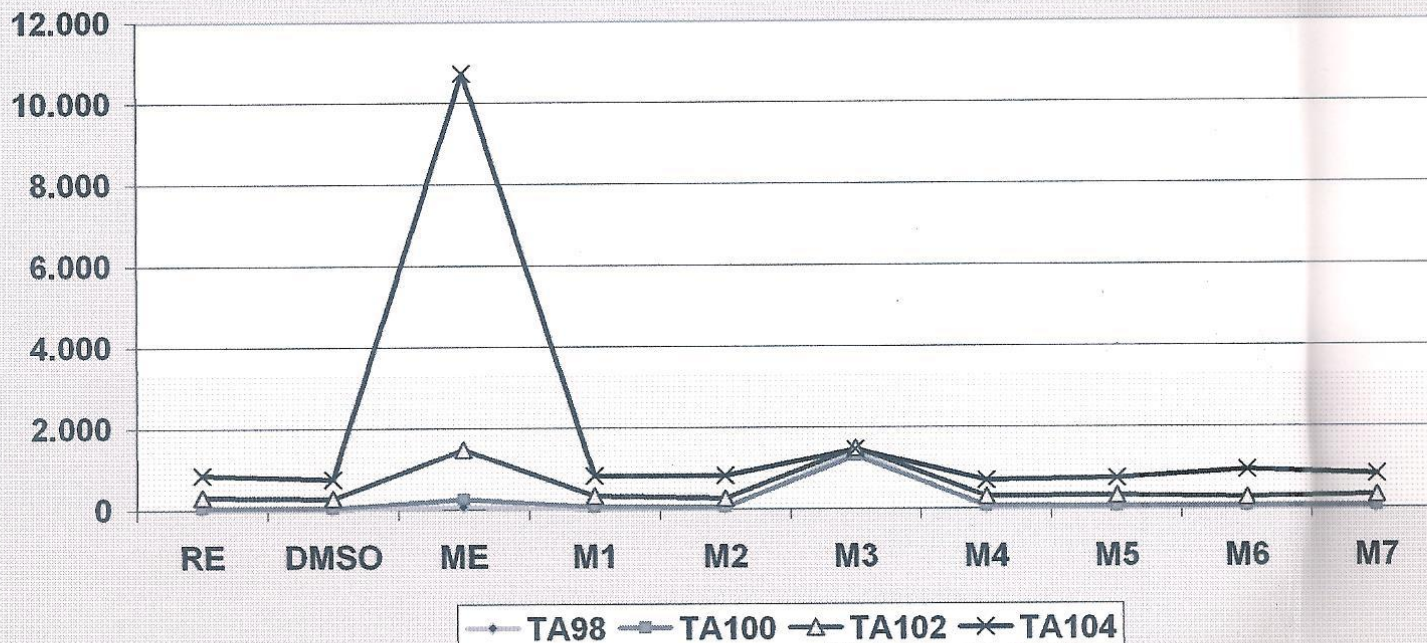
Test de Mutagenicidad (Ames)

Número de revertientes por placa (R/PP) a las 48 horas en *Salmonella typhimurium*

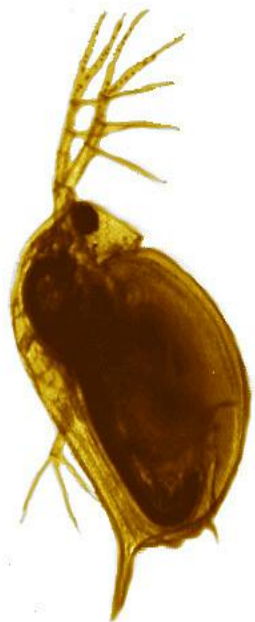
- M1 - Lodo compostado 1
- M2 - Lodo Compostado 2
- M3 - Lodo deshidratado en maduración
- M4 - Lodo deshidratado muy maduro
- M5 - Compost muy maduro
- M6 - Compost en proceso de maduración
- M7 - Compos neutro

	Media Revertientes			
	TA98	TA100	TA102	TA104
RE	18	55	308	846
DMSO	16	50	281	758
ME	69	269	1467	10729
M1	19	61	332	817
M2	17	51	259	827
M3	1.389	1291	1490	1453
M4	14	58	302	695
M5	17	45	314	745
M6	19	42	260	938
M7	15	51	319	813

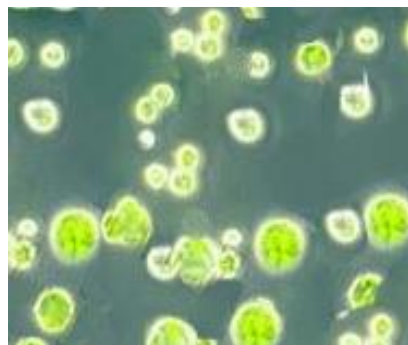
Revertientes por placa en cepas de *S. typhimurium*



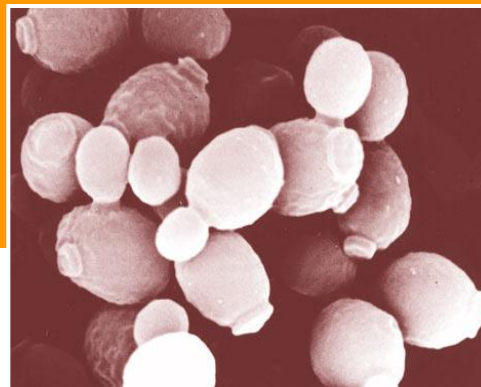
**Toxicidad
aguda.**



Daphnia magna



Chlorella vulgaris



Estrogenicidad:
Saccharomyces cerevisiae

**Ensayos
biológicos**

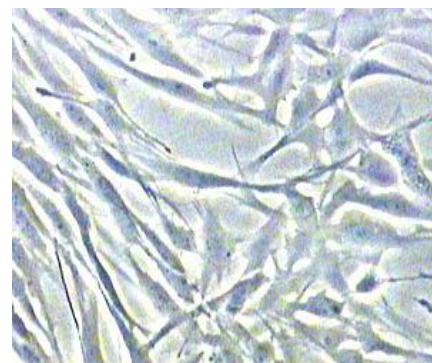


Toxicidad crónica:
**Teratogenia durante
Desarrollo embrio-larval**
Oryzias latipes (Medaka)



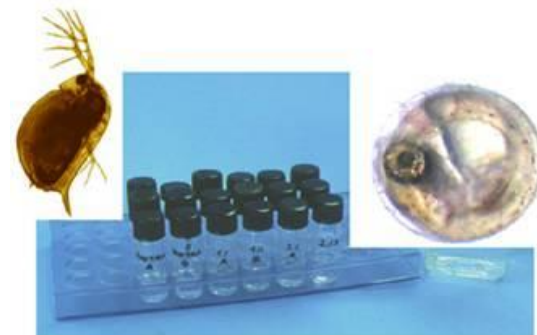
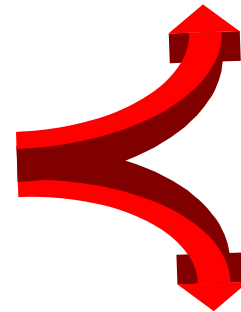
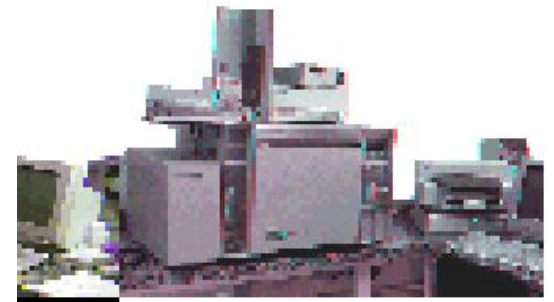
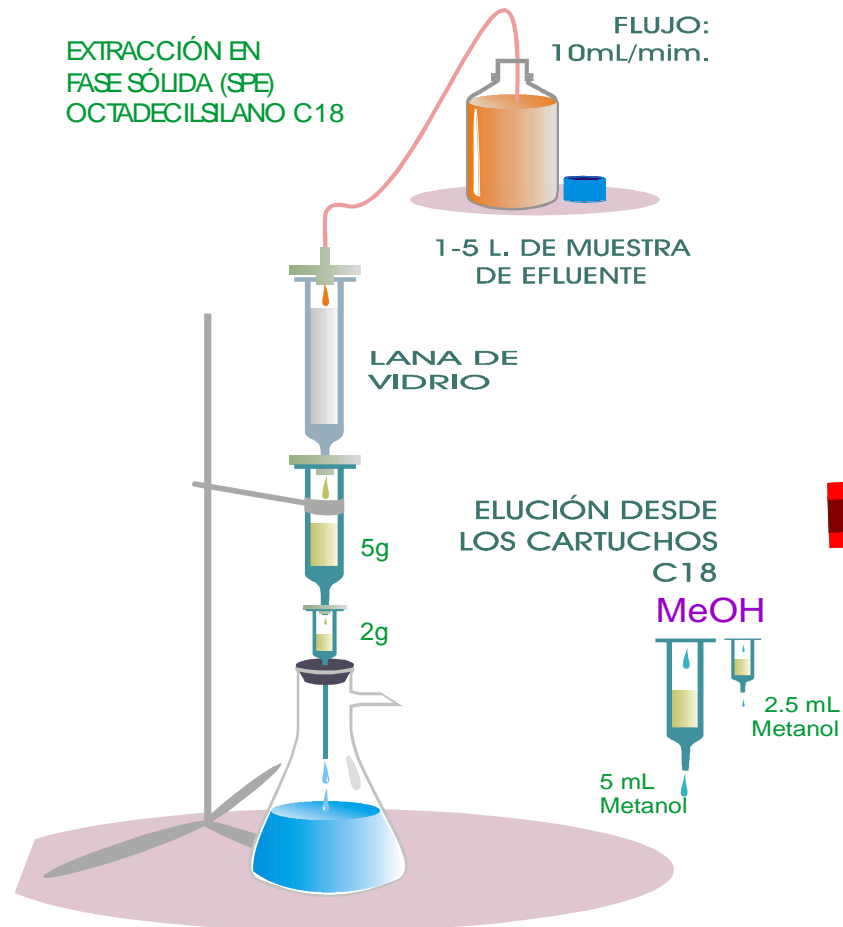
Mutagenicidad:
Salmonella typhimurium

**Estrogenicidad
Teratogenicidad
Mutagenicidad**



RTG-2 (Trucha arco iris)

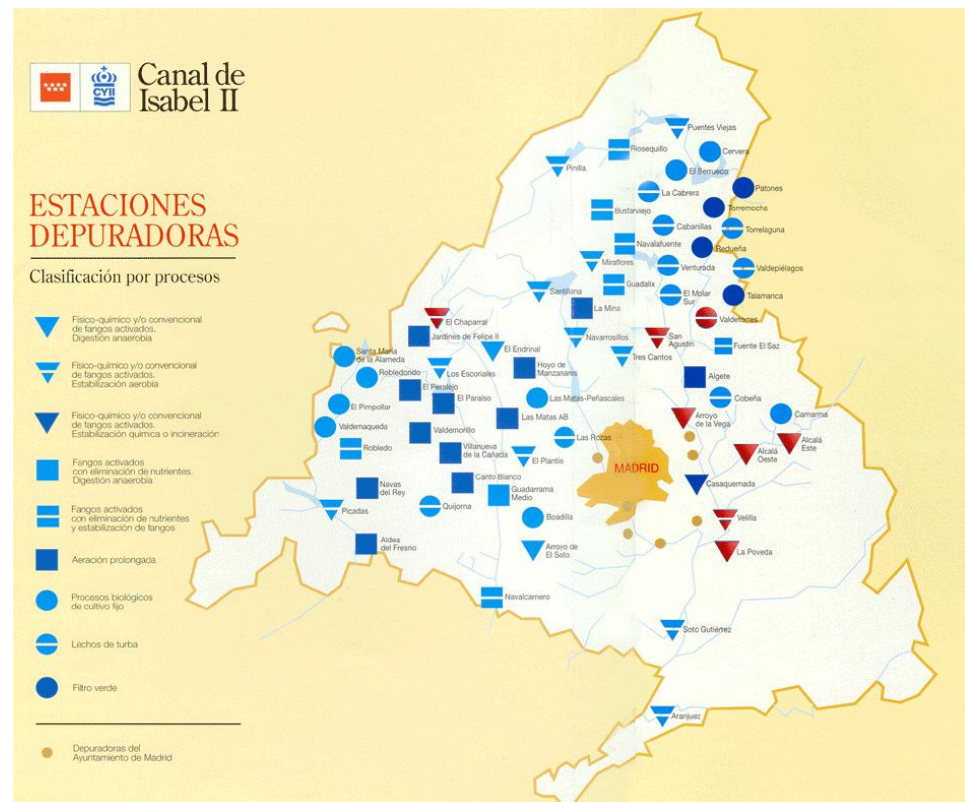
Evaluación Genotóxica de Sustancias Químicas



Evaluación Genotóxica de Efluentes de la Comunidad de Madrid

Depuradoras de la Comunidad de Madrid

- Depuradora D 1
- San Agustín de Guadalix D2
- EL Chaparral D3
- Alcalá Este Urbana D4
- Fuente del Saz D5
- Alcalá Oeste D6
- San Agustín de Guadalix D7
- Velilla D8
- La Poveda D9



TA100-S9

TA100+S9

	1	2	3	Media	SD	1	2	3	Media	SD
Control	69	125	116	92,5	33,2	127	142	122	124,5	3,5
Mutágeno estándar	1709	2063	2150	1929,5	311,8	570	532	605	587,5	24,7
D2A2 50%	94	114	86	90,0	5,7	80	93	108	94,0	19,8
D0A2 100%	65	87	77	71,0	8,5	109	116	92	100,5	12,0
Metanol	96	105	106	101,0	7,1	95	117	112	103,5	12,0

	1	2	3	Media	SD	1	2	3	Media	SD
Control	132	127	119	125,5	9,2	118	132	129	123,5	7,8
Mutágeno estándar	4135	4083	3379	3757,0	534,6	839	783	781	810,0	41,0
D3A2 50%	118	92	116	117,0	1,4	106	112	106	106,0	0,0
D3A2 25%	105	100	104	104,5	0,7	113	105	103	108,0	7,1
Metanol	106	109	111	108,5	3,5	106	112	106	106,0	0,0

	1	2	3	Media	SD	1	2	3	Media	SD
Control	121	123	162	141,5	29,0	186	177	167	176,5	13,4
Mutágeno estándar	2989	3356	3476	3232,5	344,4	1631	875	880	1255,5	531,0
D7A2 50%	150	153	172	161,0	15,6	181	179	204	192,5	16,3
D7A2 25%	154	164	154	154,0	0,0	168	159	159	163,5	6,4
Metanol	151	172	162	156,5	7,8	174	179	135	154,5	27,6

	1	2	3	Media	SD	1	2	3	Media	SD
Control	18	26	25	21,5	4,9	20	23	27	23,5	4,9
Mutágeno estándar	259	82	181	220,0	55,2	333	340	360	346,5	19,1
D5A2 50%	22	22	20	21,0	1,4	30	30	26	28,0	2,8
D5A2 25%	27	21	23	25,0	2,8	30	24		27,0	4,2
Metanol	23	25	29	26,0	4,2	17	17	21	19,0	2,8

TA98-S9

TA98+S9

	1	2	3	Media	SD	1	2	3	Media	SD
Control	25	23	22	23,5	2,1	17	25	21	19,0	2,8
Mutágeno estándar	385	319	348	356,5	12,0	867	512	481	674,0	272,9
D2A2 50%	18	17	18	18,0	0,0	20	22	28	24,0	5,7
D0A2 100%	20	19	25	22,5	3,5	16			16,0	0,0
Metanol	17	25	15	16,0	1,4	21	27	22	21,5	0,7

	1	2	3	Media	SD	1	2	3	Media	SD
Control						25	29	28	26,5	2,1
Mutágeno estándar	138			138,0		214	200	189	201,5	17,7
D3A2 50%	23	22	16	19,5	4,9	23	20	19	21,0	2,8
D3A2 25%	17	15	13	15,0	2,8	26	21	28	23,5	3,5
Metanol	12			12,0		18	28	23	20,5	3,5

	1	2	3	Media	SD	1	2	3	Media	SD
Control	36	29	35	35,5	0,7	38	43	39	38,5	0,7
Mutágeno estándar	437	398	407	422,0	21,2	1024	979	773	898,5	177,5
D7A2 50%	22	25	34	28,0	8,5	28	34	37	32,5	6,4
D7A2 25%	20	20	27	23,5	4,9	33	39	31	32,0	1,4
Metanol	29	27	27	28,0	1,4	31	35	35	33,0	2,8

	1	2	3	Media	SD	1	2	3	Media	SD
Control	134	124	125	129,5	6,4	135	103	130	132,5	3,5
Mutágeno estándar	2780	3350	2991	2885,5	149,2	513	404	424	468,5	62,9
D5A2 50%	78	105	104	90,0	19,8	111	98	124	117,5	9,2
D5A2 25%	108	85	95	101,5	9,2	115	108	107	111,0	5,7
Metanol	97	102	116	106,5	13,4	111	87	91	101,0	14,1

Actividad Mutagénica de Efluentes de Depuradoras



Available online at www.sciencedirect.com



Science of the Total Environment 328 (2004) 69–81

Science of the Total Environment
An International Journal for Scientific Research into the Environment and its Relationship with Humankind

www.elsevier.com/locate/scitotenv

Identification of organic compounds and ecotoxicological assessment of sewage treatment plants (STP) effluents

Sonia Aguayo^a, M. Jesús Muñoz^b, Ana de la Torre^b, Jaime Roset^a, Eduardo de la Peña^c, Matilde Carballo^{b,*}

^aFaculty of Veterinary Medicine, Animal Health Department, U.C.M. Ctra. Coruña s/n, 28040 Madrid, Spain

^bAnimal Health Research Center, CISA-INIA, Valdeolmos, 28130 Madrid, Spain

^cEnvironmental Science Center, CCMA-CSIC, C/Serrano 115 dpdo, 28006 Madrid, Spain

Abstract

An integrated approach combining chemistry and biological methods was conducted to assess the toxicity of seven sewage treatment plant effluents. Solid phase concentration procedures were applied to facilitate the study of organic micro pollutants. A chemical analysis was performed by GC/MS. Organic fraction toxicity was determined by using bioassays such as *Daphnia magna* and *Chlorella vulgaris* tests and sub-lethal effects were also evaluated by using *Salmonella typhimurium* Test (mutagenicity), recombinant yeast screen (estrogenicity), and *Oryzias latipes* embryonal larval test. More than 49 compounds were detected in the organic fraction due to the various inputs of each effluents. The most frequently detected compounds in the effluents were bisphenol A (BPA), octylphenol (OP), 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (DEHP) and 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(methylpropyl) ester (DBP). Biological assays showed toxicity effects on *D. magna* tests in all samples, whereas toxicity on *C. vulgaris* or *S. typhimurium* tests were not observed. Estrogenicity and teratogenicity were observed in several samples. The cause-effect relationship could not be established given the high chemical complexity of the effluents and the lack of information available on 70% of the detected compounds subsequent to reviewing various data bases. Nevertheless, due to the high chemical variability revealed by STP effluents, bioassay sets may provide a very useful amount of information for detecting potential toxicity risks.

© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: STP effluents; Organic pollutants; Solid phase concentration; GC/MS; Sublethal effects; Toxicity

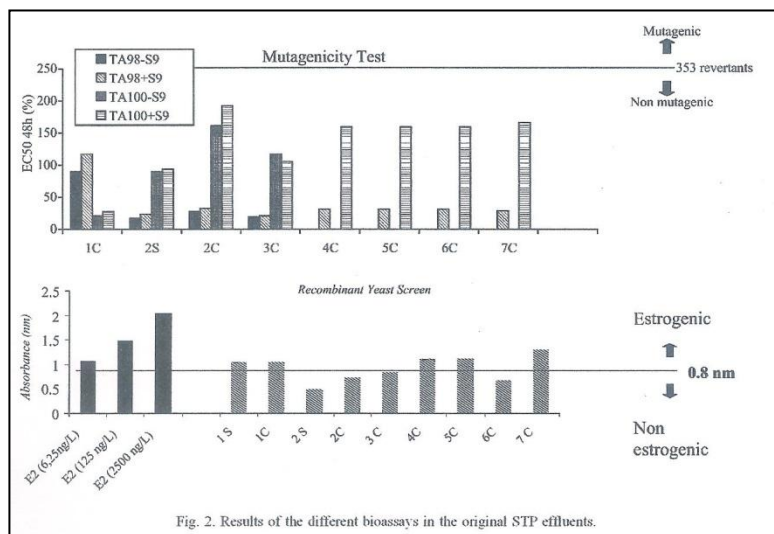


Fig. 2. Results of the different bioassays in the original STP effluents.

S. Aguayo et al. / Science of the Total Environment 328 (2004) 69–81

75

Table 2

Organic compounds identified by GC/MS in the seven effluents and their percentage of apparition. It is also shown the type of effects on aquatic organisms referenced according to the consulted data base (Toxicity, Endocrine Disruption (ED), Carcinogenicity (C), Mutagenicity (M) and Teratogenicity (Ter)). Due to the range of toxicity presented, compounds are considered as Very Toxic (VT), Toxic (T) and Harmful (H) and Not Toxic (NT), when the values of toxicity ranged from: 0–1 mg/L, 1–10 mg/L, 10–100 mg/L and > 100 mg/L, respectively (CD/67/548/EEC)

Compounds	CAS	% Apparition	Effects
Bisphenol A (BPA)	80-05-7	100	T/ED
Octylphenol (OP)	140-66-9	100	VT/ED
Di-isobutyl-phthalate (DIBP)	84-69-5	86	T/ED
N,N-Dimethyl-1-benzenamine	121-69-7	86	T/C
Di-ethylhexyl-phthalate (DEHP)	117-81-7	86	VT/C/ED/M
2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)-phenol	128-39-2	57	T/C
Di-ethyl phthalate (DEP)	84-66-2	57	H/M
3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-(S)-pyridine	54-11-5	43	VT
17 β Estradiol (E2)	50-28-2	43	ED
9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)-	1120-25-8	43	-
Hexadecenoic acid, methyl ester	112-39-0	43	-
Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-	128-37-0	29	-
Phenol, 4-(2,2,3,3-tetramethylbutyl)	54932-78-4	29	VT
Etra, 1,3,5-(10)-trien-17-one, 3-methoxy-	162462-0	29	-
Phenol, (1,1-dimethylethyl)-4-methoxy-	25013-16-5	29	-
Phosphoric acid, tributyl ester	126-73-8	29	T
Pyridine, 2,3-dimethyl-	583-61-9	29	-
Ethyl ni estradiol (E2E)	57-63-6	29	ED/M
7-Methoxy-2,2-dimethyl-2H-1-benzothopyran	86778-101	14	-
Benzene, 1,2,3-trimethoxy-5-methyl-	6434-69-2	14	T
Galaxolide	-	14	-
1,2,7,8,8a,9,10a Octalindro 2,2,7,7-tetramethylphenanthrene	81478-79-7	14	-
1,2-Benzenedicarboxylic acid, 3-nitro-	603-11-2	14	-
Di-butyl-phthalate (DBP)	84-74-2	14	T/ED/Ter
1-Butanamine, N,N-dibutyl-	102-82-9	14	T
2-Propanol, 1-(2-methoxy-1-methylethoxy)-	20324-32-7	14	-
3-Eicosene, (E)-	74685-33-9	14	-
7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)-	56875-67-3	14	-
Benzenamine, N,N-diethyl-	91-46-7	14	T
1,3-dimethyl-Benzene	108-38-3	14	T
Benzene, trimethyl(1-methylethyl)-	33991-29-6	14	-
Benzothiazole, 2-(methylthio)-	615-22-5	14	-
Cyclohexanone, 4-(1,1-dimethylethyl)-	98-53-3	14	-
Diazinon	333-41-5	14	VT/Ter
Diphosphoric acid, tetraethyl ester	107-49-3	14	VT
Estra-1,3,5(10)-trien-17-one, 3-hydroxy-1-methyl	4011-48-7	14	-
Estra-1,3,5(10)-trien-17-one, 3-methoxy-, (9b,13a)-	58072-52-9	14	-
Ethanol, 2-phenoxo-	122-99-6	14	H
Ethanone, 1-[4-(1,4-phenylene) bis	1009-61-6	14	-
Ethanone, 1-[4-(1-hydroxy-1-methylethyl)phenyl]-	54549-72-3	14	-
N-Formyl-2-(2,5-dimethylphenyl)-piperidine	80574-60-3	14	-
Octadecene, (E)-	7206-21-5	14	-
Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	5129-60-2	14	-
Phenol	108-95-2	14	T/M
Phenol, 3-(1-methylethyl)	618-15-1	14	-
Triethyl phosphate	78-40-0	14	-
Pyridine, 2,3,5-trimethyl-	695-98-7	14	-
Pyridine, 2,3,6-trimethyl-	1462-84-6	14	-
Tertio butyl hydroxy anisole	121-00-6	14	-

Evaluación Genotóxica de los contaminantes de los Efluentes de Depuradoras de Gran Canaria, Islas Canaria (Archipiélago Canario)

El estudio que aquí se presenta se engloba dentro de un proyecto de valoración sanitaria de varias especies de cetáceos residentes en el archipiélago canario y los objetivos de dicho proyecto son los siguientes:

- **studiar el estatus de salud de estos mamíferos marinos, cuyo hábitat está influenciado por actividades humanas.**
- **conocer las patologías y causas de las muertes.**
- **conocer la contribución de las fuentes de contaminación en las patologías.**
- **valorar la exposición y los efectos potenciales.**
- **valorar los depósitos de contaminantes en tejidos.**
- **relacionar patologías reproductoras con compuestos químicos.**
- **establecer un banco de tejidos para estudios retrospectivos y prospectivos.**

Evaluación Genotóxica de Efluentes de Depuradoras

	TA98	TA100
C1 (100%)	29	100
C1 (50%)	30	99
C1 (25%)	28	98
C2 (100%)	35	48
C2 (50%)	30	84
C3 (100%)	13	42
C3 (50%)	17	60
C4 (100%)	29	58
C4 (50%)	15	57
C5 (100%)	19	81
C5 (50%)	11	74
C6 (100%)	30	91
C6 (50%)	23	93
C7 (100%)	29	88
C7 (50%)	24	91

	TA98	TA100
R.E.	25	82
R.S.	18	87
R.MeOH	18	81
R.M.	148	1.299

	TA98	TA100
R.E.	20	93
R.S.	18	91
R.MeOH	24	106
R.M.	128	1.191

	TA98	TA100
C6 (100%)	26	93
C6 (75%)	21	93
C6 (50%)	21	88

R.E.: Reversión Espontánea

R.S.: Reversión con DMSO

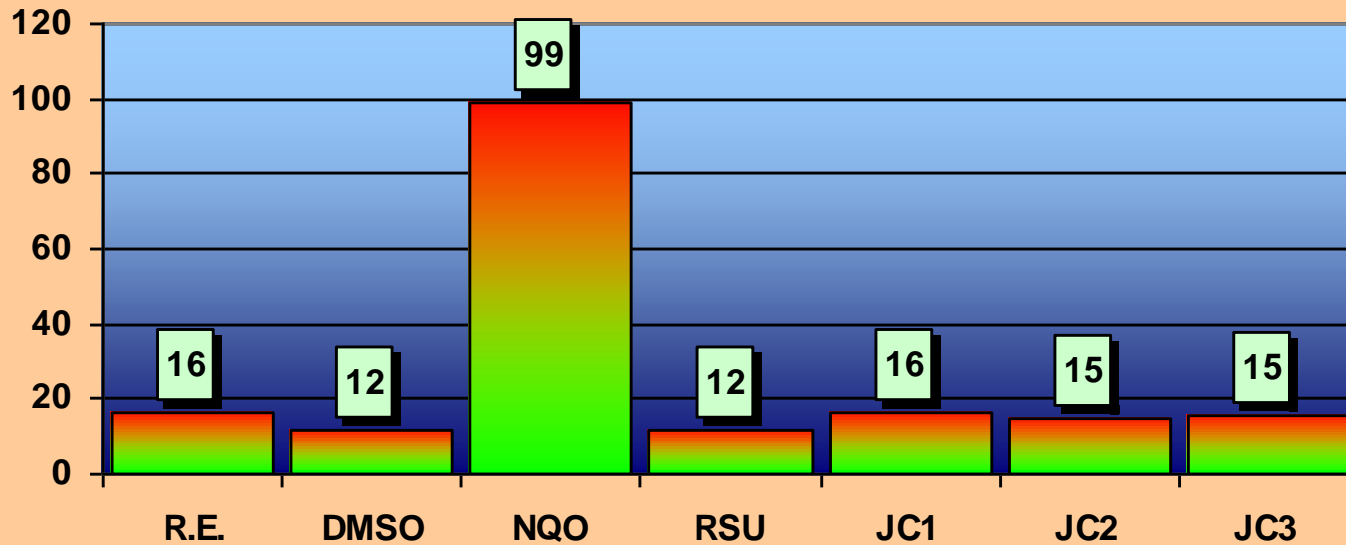
R.MeOH: Reversión con Metanol

R.M.: Reversión con Mutágeno estándar

TA98: 4-NQO (Óxido de 4 Nitroquinolina)

TA100: MMS (Metil Metano Sulfonato)

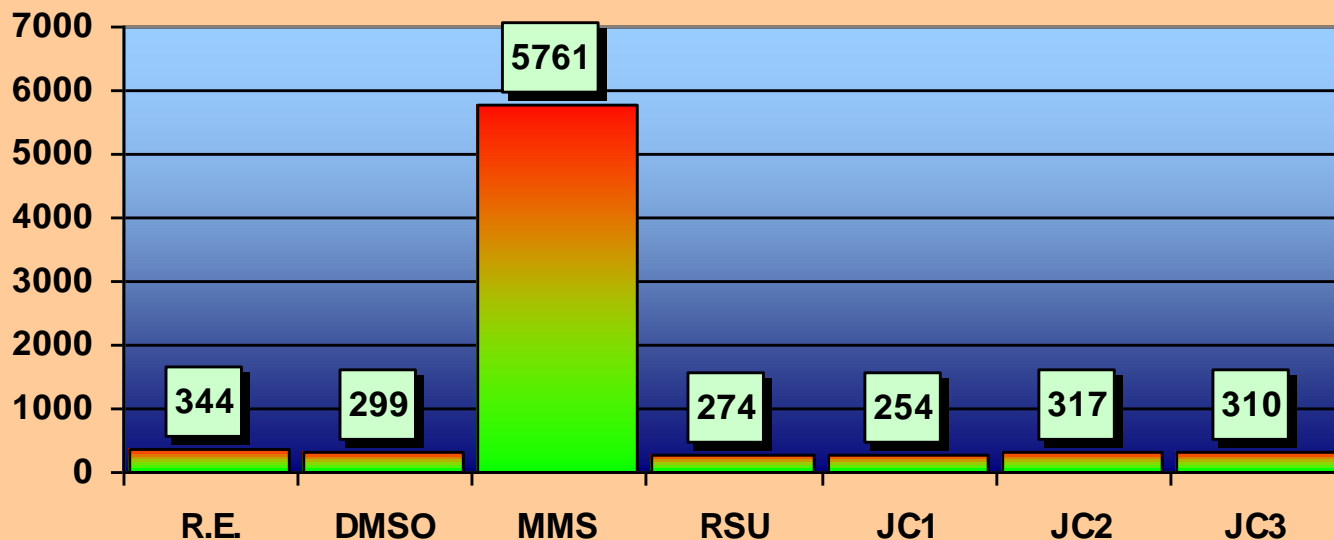
Nº Revertientes en *Salmonella typhimurium* TA98



	TA98		
	Reversión	Índice	Clasificación
R.E.	16	1	NM
DMSO	12	0,71	NM
NQO	99	6,06	M ²
RSU	12	0,73	NM
JC1	16	1,00	NM
JC2	15	0,92	NM
JC3	15	0,94	NM

CEPA: TA98				
TA98				
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media
R.E.	13	16	20	16
DMSO	8	15	12	12
NQO	101	128	68	99
TA98				
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media
RSU	11	9	16	12
JC1	12	17	20	16
JC2	14	20	11	15
JC3	17	14	15	15

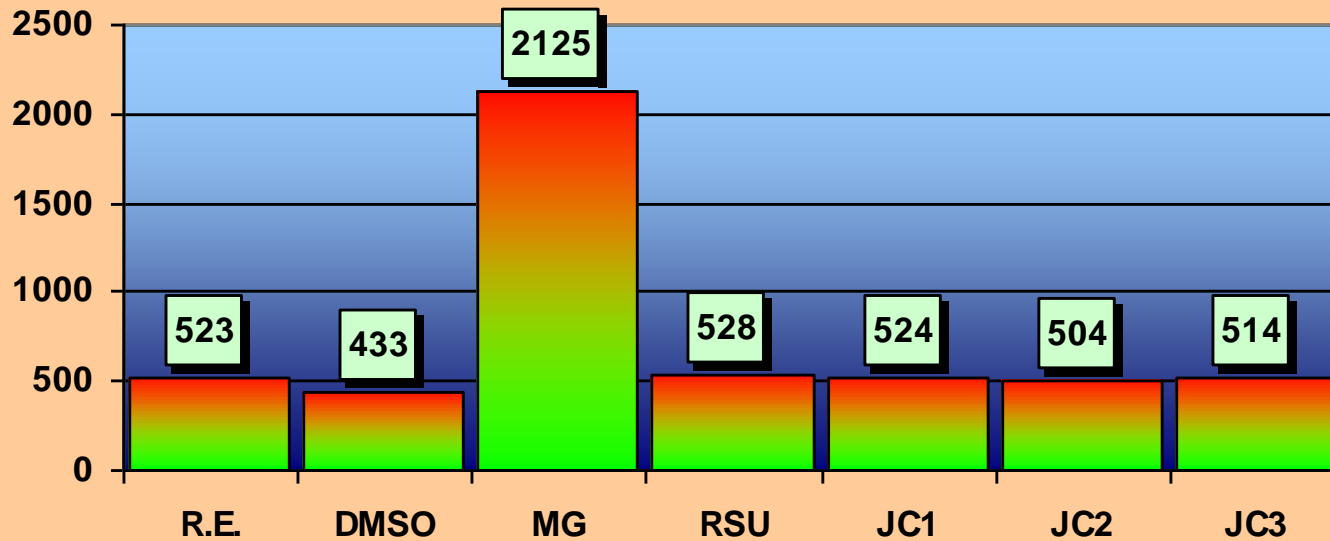
Nº Revertientes en *Salmonella typhimurium* TA102



	TA102		
	Reversión	Índice	Clasificación
R.E.	344	1	NM
DMSO	299	0,87	NM
MMS	5761	16,76	M ⁴
RSU	274	0,80	NM
JC1	254	0,74	NM
JC2	317	0,92	NM
JC3	310	0,90	NM

CEPA: TA102				
TA102				
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media
R.E.	337	332	362	344
DMSO	295	304	298	299
MMS	5830	5263	6189	5761
TA102				
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media
RSU	255	305	262	274
JC1	262	257	242	254
JC2	379	250	321	317
JC3	275	277	377	310

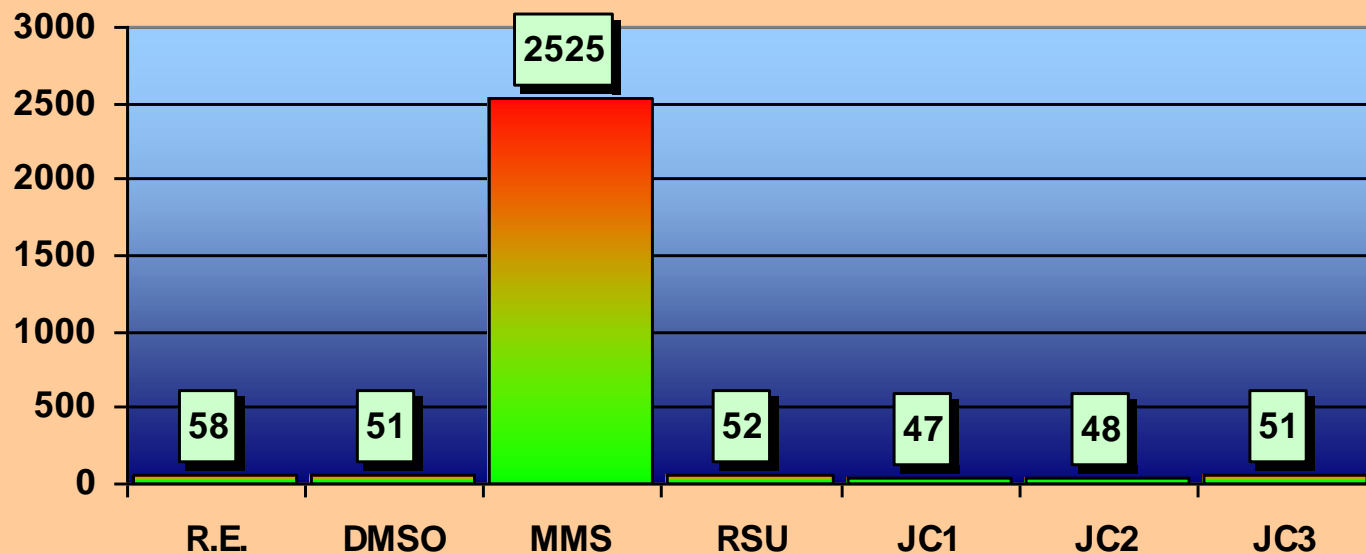
Nº Revertientes en *Salmonella typhimurium* TA104



TA104			
	Reversión	Índice	Clasificación
R.E.	523	1	NM
DMSO	433	0,83	NM
MG	2125	4,06	M ²
RSU	528	1,01	NM
JC1	524	1,00	NM
JC2	504	0,96	NM
JC3	514	0,98	NM

CEPA: TA104				
TA104				
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media
R.E.	534	503	533	523
DMSO	397	457	445	433
MG	2124	2276	1974	2125
TA104				
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media
RSU	512	574	498	528
JC1	506	554	513	524
JC2	463	561	489	504
JC3	520	526	495	514

Nº Revertientes en *Salmonella typhimurium* TA100



	TA100		
	Reversión	Índice	Clasificación
R.E.	58	1	NM
DMSO	51	0,88	NM
MMS	2525	43,78	M ⁴
RSU	52	0,91	NM
JC1	47	0,81	NM
JC2	48	0,84	NM
JC3	51	0,88	NM

CEPA: TA100				
TA100				
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media
R.E.	52	66	55	58
DMSO	43	53	56	51
MMS	2259	2760	2555	2525
TA100				
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Media
RSU	49	46	62	52
JC1	47	50	43	47
JC2	46	36	63	48
JC3	61	42	49	51



En 2008 la generación de residuos disminuyó un 10%. Este año se prevé que baje más.

Sin consumo no hay reciclaje

Tras una década de fuerte crecimiento, la recuperación de residuos sufre su primera crisis con la desaceleración económica

Ley de Prevención y Control Integrado de la Contaminación - IPPC

La Ley 16/2002, de 1 de julio, de prevención y control integrado de la contaminación

Categorías que se contemplan en el Anejo 1,

- 4. Industrias Químicas
- **5. Gestión de Residuos**
- 9. Industrias agroalimentarias y explotaciones ganaderas
- 9.1 Instalaciones para
- c. Tratamiento y transformación de leche, con una cantidad de leche recibida superior a 200 toneladas por día (valor medio anual)

Plan Nacional Integrado de Residuos

Descripción de la situación actual

- Incremento de residuos ligado al crecimiento económico
- Déficit de información y de estadísticas
- Mayor sensibilización sobre el problema ambiental de los residuos
- Residuos urbanos de origen domiciliario, legislación compleja y necesidad de articular diferentes modelos de gestión entre todas las administraciones para su cumplimiento
- Nueva normativa para residuos específicos y nuevos sistemas de gestión
- Los programas de I+D+I están empezando a dar resultados
- Se ha mejorado el control, la inspección y la vigilancia
- Diferente grado de desarrollo y aplicación de la normativa entre distintas Administraciones.

La jerarquía de los residuos

La jerarquía de los residuos

- 1. Prevención**
- 2. Preparación para la Reutilización**
- 3. Reciclaje** incluido el compostaje
- 4. Otro tipo de Valorización**, p.e. la energética
- 5. La Eliminación**

Es una "orden de prioridad" en la legislación y gestión algo más que recomendación pero menos que obligación ...

Se permite apartarse por ciclo de vida

Valorización

- Uno de los grandes retos de la Directiva de Residuos
- Todos los residuos deben ser sometidos a operaciones de valoración, reutilización, reciclado, energético
- Se establece cuando una operación de incineración es eliminación y cuando es la valorización.
- El anexo II establece una fórmula matemática y se pueden establecer coeficientes de eficiencia
- Operación que sirva para sustituir materiales que se hubieran utilizado o que el residuo sea preparado para esa función o en la economía general

Fin de la condición residuo

- Dejan de serlo cuando han sido sometidos a una operación de **valorización**, incluido el reciclado y cumplan criterios específicos según las condiciones siguientes:
- Uso para finalidades específicas
- Existe mercado o demanda
- Cumple requisitos técnicos y legislación para productos
- Sin impactos para el medio ambiente

Valorización:

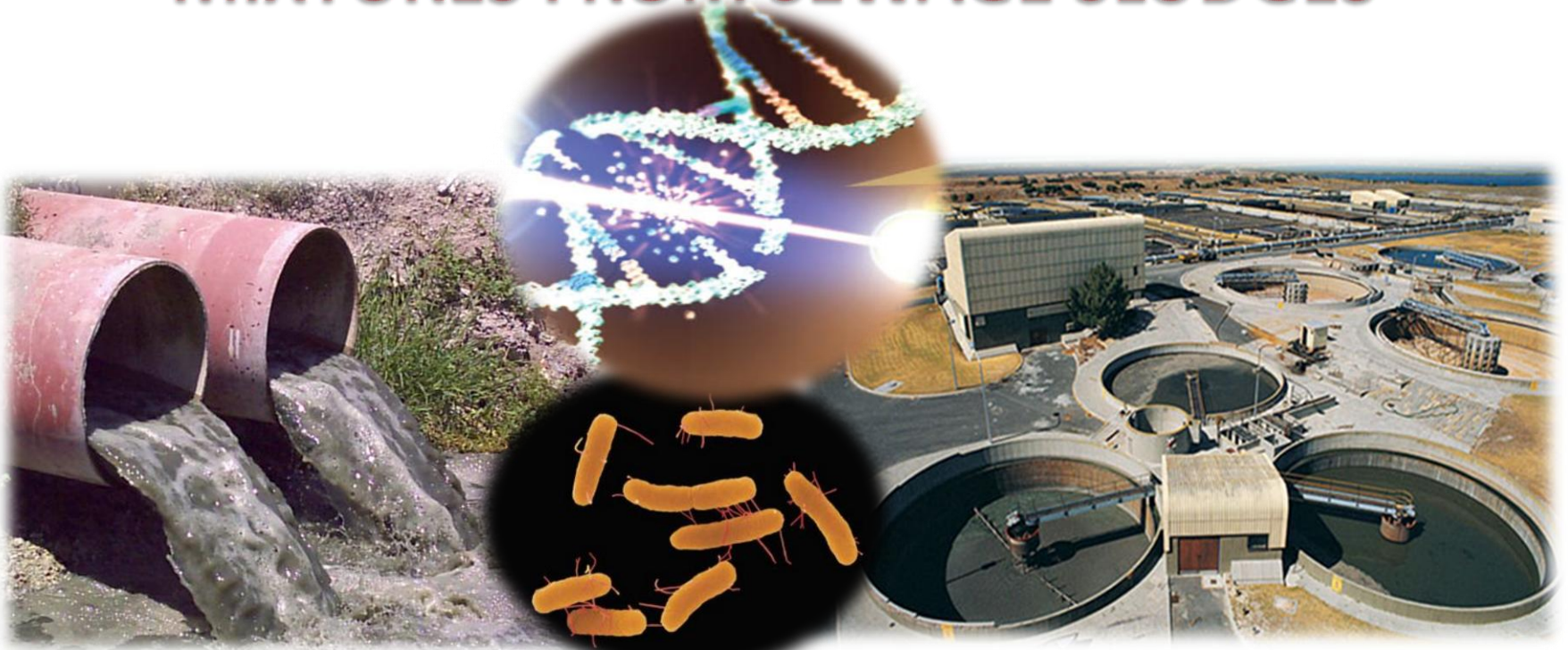


todo procedimiento que permita el **aprovechamiento** de los recursos contenidos en los residuos

sin poner en peligro la salud humana y

sin utilizar métodos que puedan causar perjuicios al medio ambiente. En todo caso, estarán incluidos en este concepto los procedimientos enumerados en el anexo II.B de la Decisión de la Comisión

GENOTOXIC EVALUATION OF COMPLEX MIXTURES FROM SEWAGE SLUDGES



Evaluación mutagénica de Líquidos de pirólisis – Muestras globales

T=Temperatura de pirólisis; %= dilución de la muestra;

TA98, TA100, TA102 y TA104 = cepas de *Salmonella typhimurium*;

Las tablas muestran el número de colonias revertientes, entre paréntesis los índices de mutación (IM)

Líquido pirólisis Madrid Sur - Global - (Sin S9)					
T ^o	%	TA98	TA100	TA102	TA104
450 ^o C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	271 (0.0)	300 (0.0)
	15	19 (-0.1)	173 (0.5)	228 (-0.2)	308 (0.0)
	20	15 (-0.3)	188 (0.6)	231 (-0.2)	324 (0.1)
	25	18 (-0.2)	179 (0.5)	209 (-0.3)	314 (0.0)
530 ^o C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	13 (-0.4)	123 (0.1)	316 (0.1)	215 (-0.3)
	20	17 (-0.2)	123 (0.1)	266 (-0.1)	196 (-0.3)
	25	490 (21.0)	101 (-0.1)	212 (-0.3)	135 (-0.5)
650 ^o C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	11 (-0.5)	344 (2.0)	751 (1.6)	91 (-0.7)
	20	0 (-1.0)	0 (-1.0)	0 (-1.0)	6 (-1.0)
	25	0 (-1.0)	0 (-1.0)	0 (-1.0)	0 (-1.0)

Líquido pirólisis Madrid Sur - Global - (Con S9)					
T ^o	%	TA98	TA100	TA102	TA104
450 ^o C	0	25 (0.0)	102 (0.0)	176 (0.0)	364 (0.0)
	15	24 (0.0)	89 (0.1)	138 (-0.2)	408 (0.1)
	20	10 (-0.6)	107 (0.3)	126 (-0.3)	407 (0.1)
	25	8 (-0.7)	88 (0.1)	174 (0.0)	379 (0.0)
530 ^o C	0	21 (0.0)	103 (0.0)	174 (0.0)	307 (0.0)
	15	18 (-0.1)	1704 (15.6)	0 (-1.0)	1079 (2.5)
	20	953 (44.4)	18 (-0.8)	0 (-1.0)	755 (1.5)
	25	978 (45.6)	0 (-1.0)	0 (-1.0)	91 (-0.7)
650 ^o C	0	No evaluado, ya no hay muestra			
	15				
	20				
	25				

INCORPORACIÓN EN PLACA ESTANDAR-



T	%	TA98	TA100	TA102	TA104
450 C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	271 (0.0)	300 (0.0)
	15	19 (-0.1)	173 (0.5)	228 (-0.2)	308 (0.0)
	20	15 (-0.3)	188 (0.6)	231 (-0.2)	324 (0.1)
	25	18 (-0.2)	179 (0.5)	209 (-0.3)	314 (0.0)
530 C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	13 (-0.4)	123 (0.1)	316 (0.1)	215 (-0.3)
	20	17 (-0.2)	123 (0.1)	266 (-0.1)	196 (-0.3)
	25	490 (21.0)	101 (-0.1)	212 (-0.3)	135 (-0.5)
650 C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	11 (-0.5)	344 (2.0)	751 (1.6)	91 (-0.7)
	20	0 (-1.0)	0 (-1.0)	0 (-1.0)	6 (-1.0)
	25	0 (-1.0)	0 (-1.0)	0 (-1.0)	0 (-1.0)



Líquido pirólisis Valladolid – Global - (Sin S9)					
T°	%	TA98	TA100	TA102	TA104
450°C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	13 (-0.4)	110 (-0.1)	219 (-0.2)	94 (-0.7)
	20	12 (-0.5)	112 (0.0)	209 (-0.3)	2 (-1.0)
	25	14 (-0.5)	142 (0.2)	143 (-0.5)	0 (-1.0)
530°C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	13 (-0.4)	103 (-0.1)	152 (-0.5)	156 (-0.5)
	20	16 (-0.3)	119 (0.0)	152 (0.2)	109 (-0.6)
	25	215 (8.9)	419 (2.6)	0 (-1.0)	75 (-0.7)
650°C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	897 (40.4)	1873 (7.81)	109 (-0.6)	597 (1.0)
	20	32 (0.5)	131 (4.04)	2 (-1.0)	0 (-1.0)
	25	1 (-1.0)	16 (1.53)	1 (-1.0)	0 (-1.0)

Líquido pirólisis Valladolid – Global - (Con S9)					
T°	%	TA98	TA100	TA102	TA104
450°C	0	21 (0.0)	123 (0.0)	178 (0.0)	362 (0.0)
	15	20 (0.0)	128 (0.0)	187 (0.1)	475 (0.3)
	20	22 (0.0)	110 (-0.1)	152 (-0.1)	395 (0.1)
	25	20 (-0.1)	108 (-0.1)	140 (-0.2)	493 (0.4)
530°C	No evaluado, ya no hay muestra				
650°C	No evaluado, ya no hay muestra				



INCORPORACIÓN EN PLACA ESTANDAR Mezclas



T	Conc.	TA98	TA100	TA102	TA104
450 C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	13 (-0.4)	110 (-0.1)	219 (-0.2)	94 (-0.7)
	20	12 (-0.5)	112 (0.0)	209 (-0.3)	2 (-1.0)
	25	14 (-0.5)	142 (0.2)	143 (-0.5)	0 (-1.0)
530 C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	13 (-0.4)	103 (-0.1)	152 (-0.5)	156 (-0.5)
	20	16 (-0.3)	119 (0.0)	152 (0.2)	109 (-0.6)
	25	215 (8.9)	419 (2.6)	0 (-1.0)	75 (-0.7)
650 C	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	897 (40.4)	1873 (7.81)	109 (-0.6)	597 (1.0)
	20	32 (0.5)	131 (4.04)	2 (-1.0)	0 (-1.0)
	25	1 (-1.0)	16 (1.53)	1 (-1.0)	0 (-1.0)



Comparación de métodos para ver el efecto de los compuestos volátiles

IPE = Incorporación en placa estándar

IPLV = Incorporación en placa para líquidos volátiles

IPPI = Incorporación en placa con preincubación

LÍQUIDOS VOLÁTILES Y PRE-INCUBACIÓN Valladolid 530°C					
T°	Conc.	TA98	TA100	TA102	TA104
IPE	0	22 (0.0)	116 (0.0)	285 (0.0)	300 (0.0)
	15	13 (-0.4)	103 (-0.1)	152 (-0.5)	156 (-0.5)
	20	16 (-0.3)	119 (0.0)	152 (0.2)	109 (-0.6)
	25	215 (8.9)	419 (2.6)	0 (-1.0)	75 (-0.7)
IPLV	0	24 (0.0)	117 (0.0)	221 (0.0)	316 (0.0)
	15	50 (1.15)	85 (-0.3)	54 (-0.8)	13 (-1.0)
	20	58 (0.3)	81 (-0.3)	30 (-0.9)	11 (-1.0)
	25	64 (1.7)	53 (-0.5)	18 (-0.9)	2 (-1.0)
IPPI	0	24 (0.0)	139 (0.0)	225 (0.0)	310 (0.0)
	15	7 (-0.7)	31 (-0.8)	27 (-0.9)	7 (-1.0)
	20	4 (-0.8)	17 (-0.9)	20 (-0.9)	7 (-1.0)
	25	3 (-0.9)	14 (-0.9)	17 (-0.9)	6 (-1.0)



MIDDLE Madrid Sur (Sin S9)					
T°	%	TA98	TA100	TA102	TA104
450°C	0	17 (0.0)	116 (0.0)	261 (0.0)	291 (0.0)
	2	17 (-0.3)	98 (-0.4)	116 (-0.6)	101 (-0.7)
	3	16 (-0.3)	88 (-0.5)	79 (-0.7)	93 (-0.7)
	4	18 (-0.2)	89 (-0.5)	51 (-0.8)	71 (-0.8)
530°C	0	17 (0.0)	116 (0.0)	261 (0.0)	291 (0.0)
	2	29 (0.2)	107 (-0.4)	256 (-0.2)	49 (-0.8)
	3	70 (2.0)	95 (-0.5)	932 (2.1)	21 (-0.9)
	4	259 (10.1)	73 (-0.6)	1,464 (3.8)	10 (-1.0)
650°C	0	17 (0.0)	116 (0.0)	261 (0.0)	291 (0.0)
	2	1,845 (78.1)	63 (-0.6)	578 (0.9)	13 (-1.0)
	3	234 (9.0)	53 (-0.7)	151 (-0.5)	26 (-0.9)
	4	0 (-1.0)	65 (-0.6)	0 (-1.0)	369 (0.3)

MIDDLE Valladolid (Sin S9)					
T°	%	TA98	TA100	TA102	TA104
450°C	NO SE RECIBIO MUESTRA				
530°C	NO SE RECIBIO MUESTRA				
650°C	NO EVALUADO, MUESTRA INSUFICIENTE				

BOTTOM Madrid Sur (Sin S9)					
T°	%	TA98	TA100	TA102	TA104
450°C	0	17 (0.0)	116 (0.0)	261 (0.0)	291 (0.0)
	50	17 (0.0)	106 (-0.4)	166 (-0.5)	256 (-0.5)
	60	19 (0.1)	106 (-0.4)	181 (-0.4)	164 (-0.4)
	70	17 (0.0)	116 (-0.4)	184 (-0.4)	163 (-0.4)
530°C	0	17 (0.0)	116 (0.0)	261 (0.0)	291 (0.0)
	50	11 (-0.3)	99 (-0.4)	155 (-0.5)	240 (-0.2)
	60	16 (-0.1)	91 (-0.5)	132 (-0.6)	220 (-0.3)
	70	17 (0.0)	93 (-0.5)	146 (-0.5)	226 (-0.3)
650°C	0	17 (0.0)	116 (0.0)	261 (0.0)	291 (0.0)
	50	21 (0.2)	119 (-0.3)	240 (-0.2)	124 (-0.6)
	60	20 (0.2)	112 (-0.4)	185 (-0.4)	127 (-0.6)
	70	197 (10.4)	94 (-0.5)	164 (-0.5)	126 (-0.6)

BOTTOM Valladolid (Sin S9)					
T°	%	TA98	TA100	TA102	TA104
450°C	0	21 (0.0)		245 (0.0)	
	50	24 (0.2)	No evaluado, ya no hay muestra	134 (-0.5)	No evaluado, ya no hay muestra
	60	23 (0.1)		168 (-0.3)	
	70	23 (0.1)		136 (-0.4)	
530°C	0	21 (0.0)		245 (0.0)	
	50	24 (0.2)	No evaluado, ya no hay muestra	189 (-0.2)	No evaluado, ya no hay muestra
	60	24 (0.2)		171 (-0.3)	
	70	23 (0.1)		177 (-0.3)	
650°C	0	21 (0.0)		245 (0.0)	
	50	21 (0.0)	No evaluado, ya no hay muestra	182 (-0.3)	No evaluado, ya no hay muestra
	60	21 (0.0)		161 (-0.3)	
	70	29 (0.0)		169 (-0.3)	

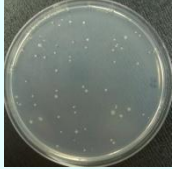
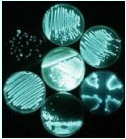
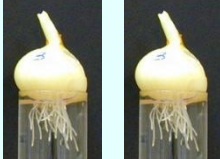

Ames Salmonella/microsome RESULTS

T	%	TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9

450 C	0	22 (0.0)	25 (0.0)	116 (0.0)	102 (0.0)	271 (0.0)	176 (0.0)
	15	19 (-0.1)	24 (0.0)	173 (0.5)	89 (0.1)	228 (-0.2)	138 (-0.2)
	20	15 (-0.3)	10 (-0.6)	188 (0.6)	107 (0.3)	231 (-0.2)	126 (-0.3)
	25	18 (-0.2)	8 (-0.7)	179 (0.5)	88 (0.1)	209 (-0.3)	174 (0.0)
530 C	0	22 (0.0)	21 (0.0)	116 (0.0)	103 (0.0)	285 (0.0)	174 (0.0)
	15	13 (-0.4)	18 (-0.1)	123 (0.1)	1704 (15.6)	316 (0.1)	0 (-1.0)
	20	17 (-0.2)	953 (44.4)	123 (0.1)	18 (-0.8)	266 (-0.1)	0 (-1.0)
	25	490 (21.0)	978 (45.6)	101 (-0.1)	0 (-1.0)	212 (-0.3)	0 (-1.0)

BIOENSAYOS APLICADOS

Ensayos Específicos

Organismo de ensayo		Parámetro de expresión		
Bacterias	<i>Salmonella typhimurium</i>		Acción mutagénica	+ / -
	<i>Vibrio fischeri</i>		Inhibición luminiscencia	CE50
Plantas	<i>Allium cepa</i>		Aberraciones cromosómicas	Índice mitótico 48 h Longitud raíces 72 h
	<i>Lepidum sativum</i>		% Germinación Longitud raíces	Germinación Longitud raíces 6 días



Agitador por rotación para obtención del lixiviado

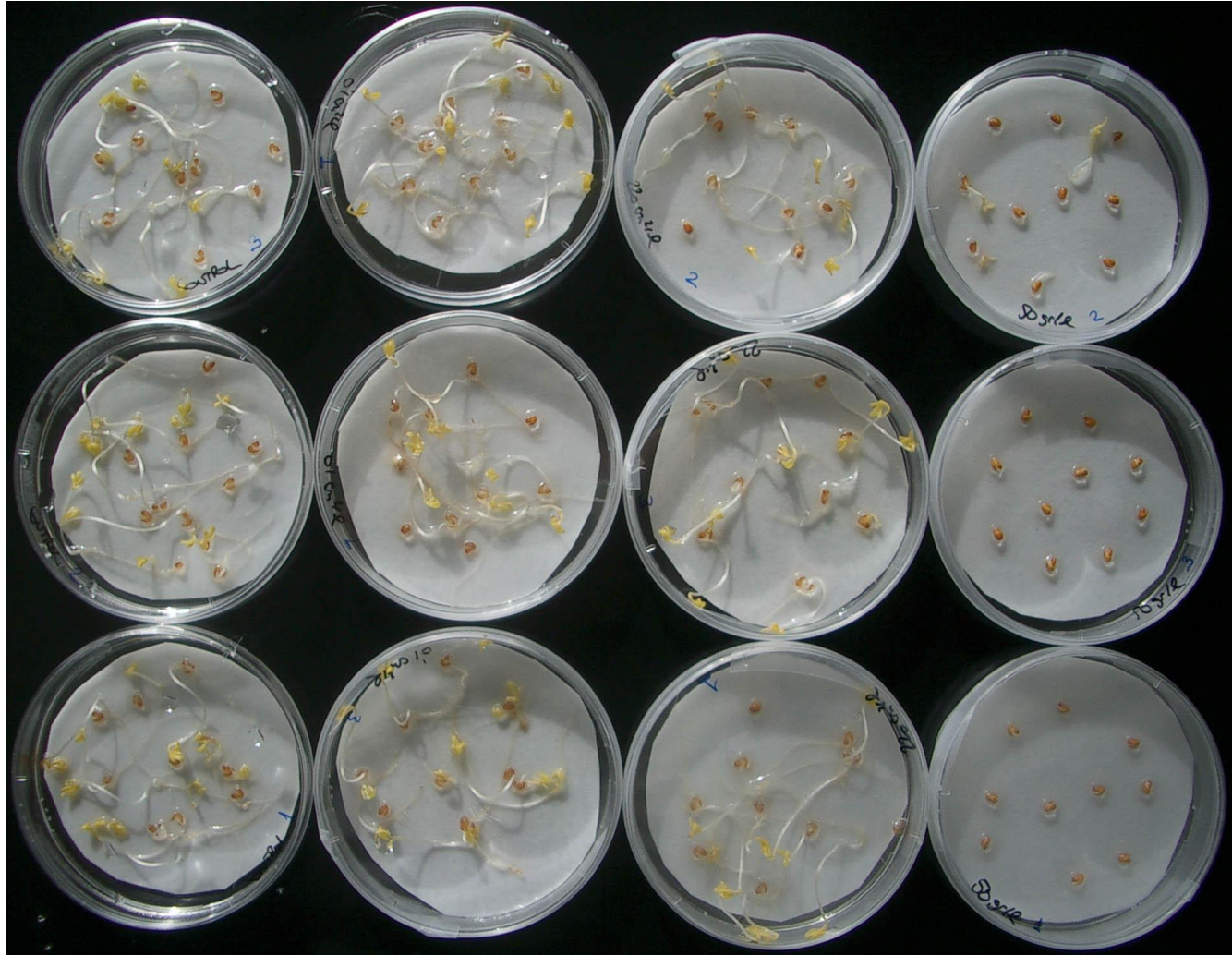
Respirómetro



Respiración
en estufa a 20°C
y con agitación

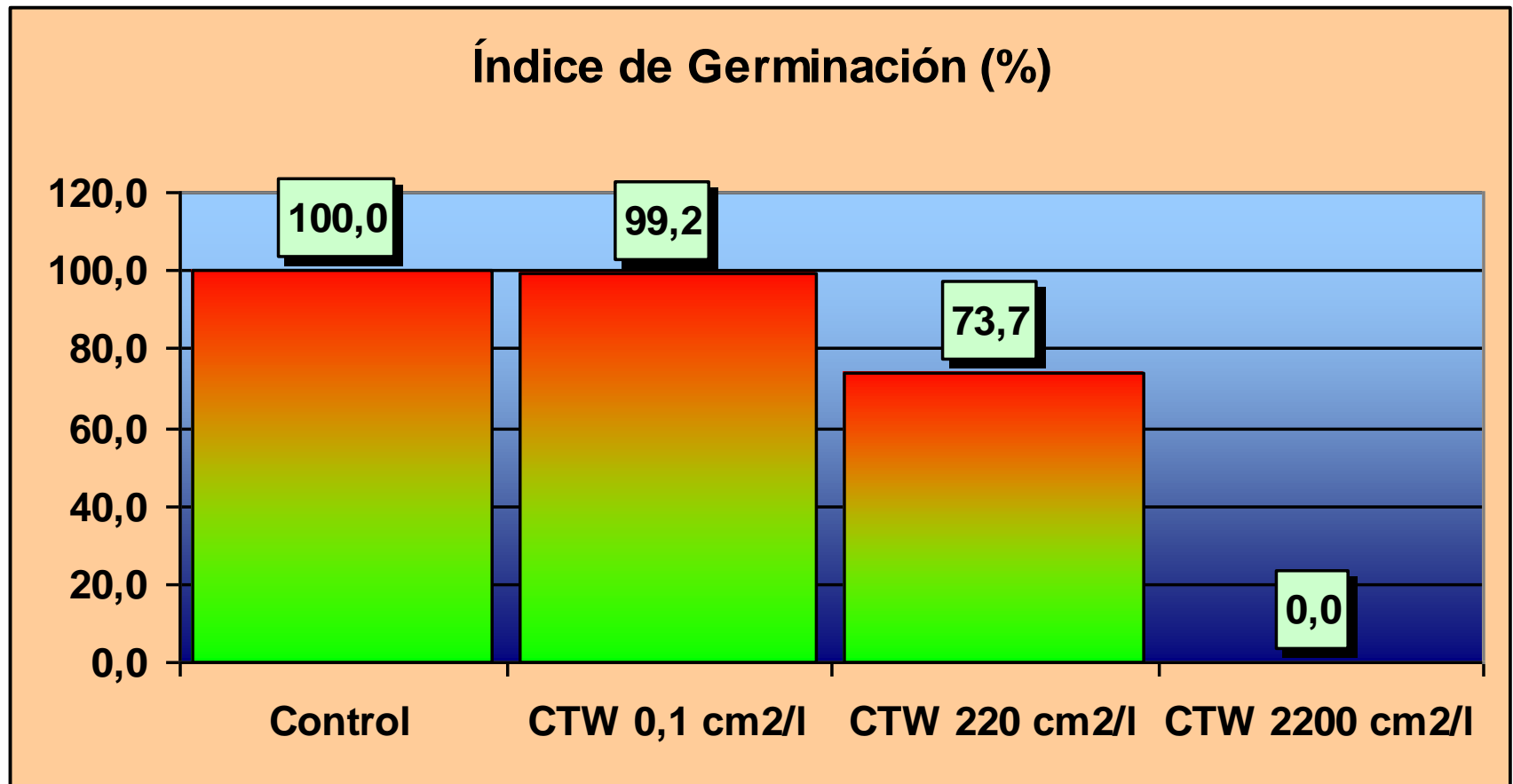


FITOTOXICIDAD:

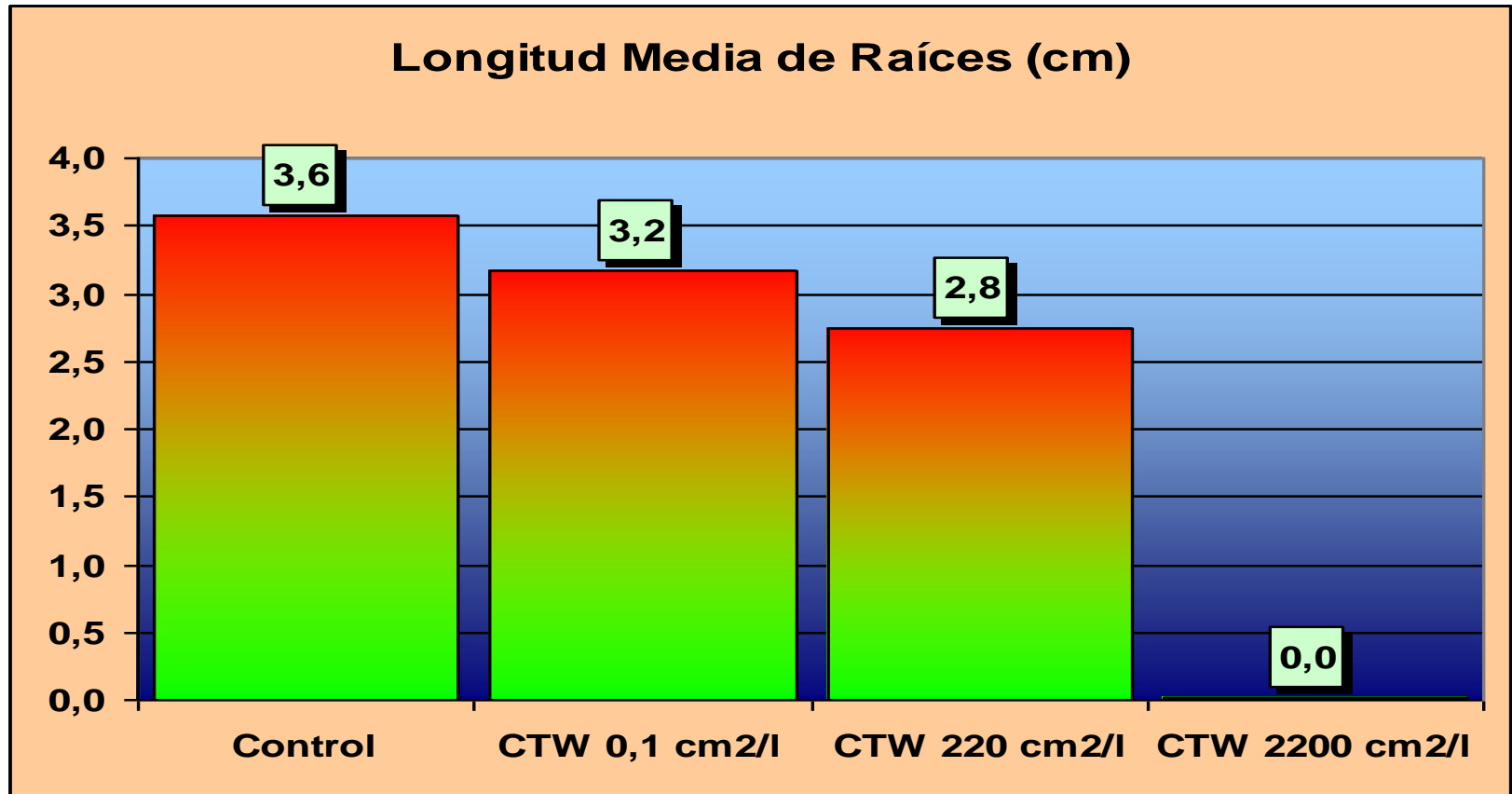




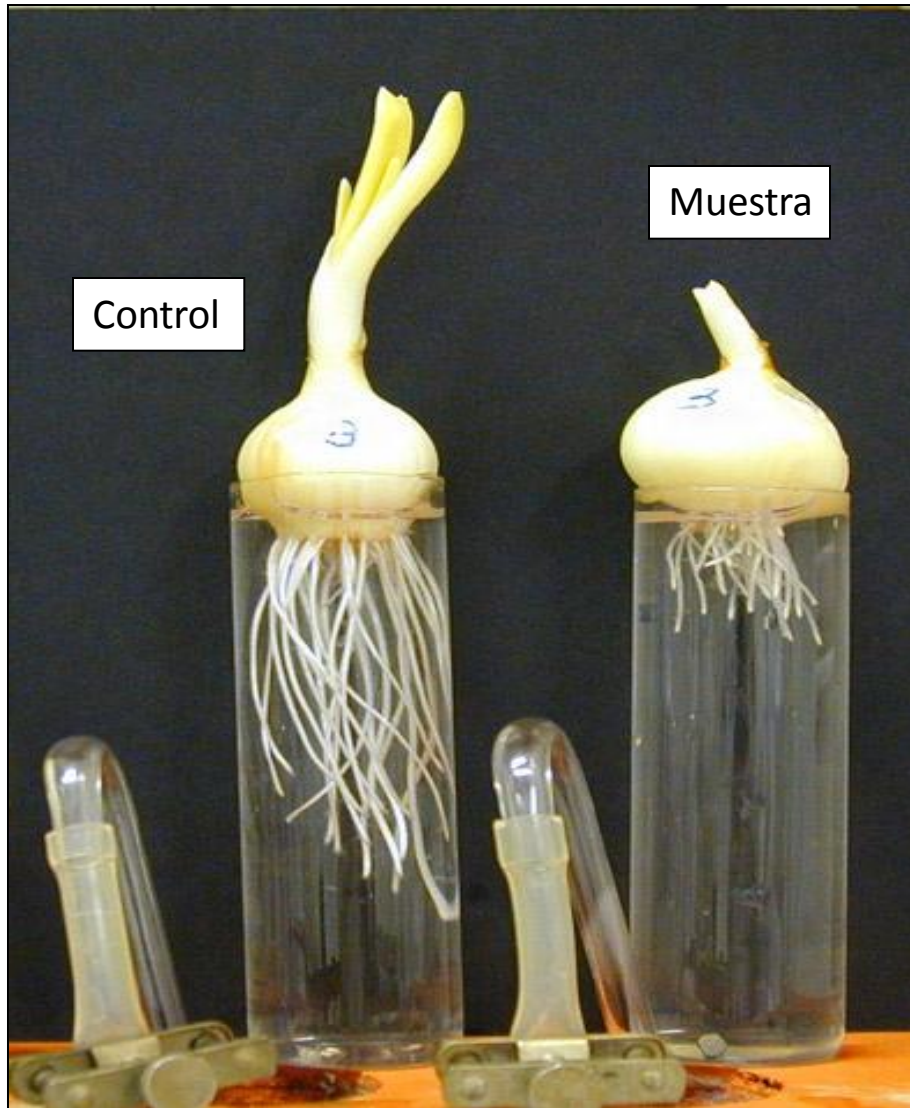
FITOTOXICIDAD:



FITOTOXICIDAD:



RESULTADOS *Allium cepa*:



Inhibición del crecimiento radicular

Crecimiento Radicular:
Inhibición entre 80-90%

Índice Mitótico:
Parada del ciclo celular en PROFASE

	Resumen				
	Total IF	Total PF	Total MF	Total AF	Total TF
Control A	0	0	0	0	0
Control B	0	0	0	0	0
M1	950	23	11	7	11
M2	931	46	9	5	9
M3	972	28	0	0	0
M4	953	48	0	0	0
M5	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0
M7	0	0	0	0	0
M8	0	0	0	0	0
M9	186	14	0	0	0
M10	183	18	0	0	0
M11	194	6	0	0	0
M12	194	6	0	0	0
M13	0	0	0	0	0



Test de Allium cepa

Índices Mitóticos tras 48h de Tratamiento

Control A	Agua
Control B	Agua
M1	CTW 0,1cm2/l
M2	CTW 0,1cm2/l
M3	CTW 0,5cm2/l
M4	CTW 0,5cm2/l
M5	CTW 1cm2/l
M6	CTW 1cm2/l
M7	CTW 110cm2/l
M8	CTW 110cm2/l
M9	CTW 1100cm2/l
M10	CTW 1100cm2/l
M11	CTW 2200cm2/l
M12	CTW 2200cm2/l

	Índice Mitótico				
	Interfases	Fases	I+F	Total Contadas	Índice
Control A	0	0	0	0	#¡DIV/0!
Control B	0	0	0	0	#¡DIV/0!
M1	950	52	1002	1000	5,2
M2	931	69	1000	1000	6,9
M3	972	28	1000	1000	2,8
M4	953	48	1001	1000	4,8
M5	0	0	0	0	#¡DIV/0!
M6	0	0	0	0	#¡DIV/0!
M7	0	0	0	0	#¡DIV/0!
M8	0	0	0	0	#¡DIV/0!
M9	186	14	200	200	6,85
M10	183	18	200	200	8,75
M11	194	6	200	200	3,05
M12	194	6	200	200	2,8
M13	0	0	0	0	#¡DIV/0!

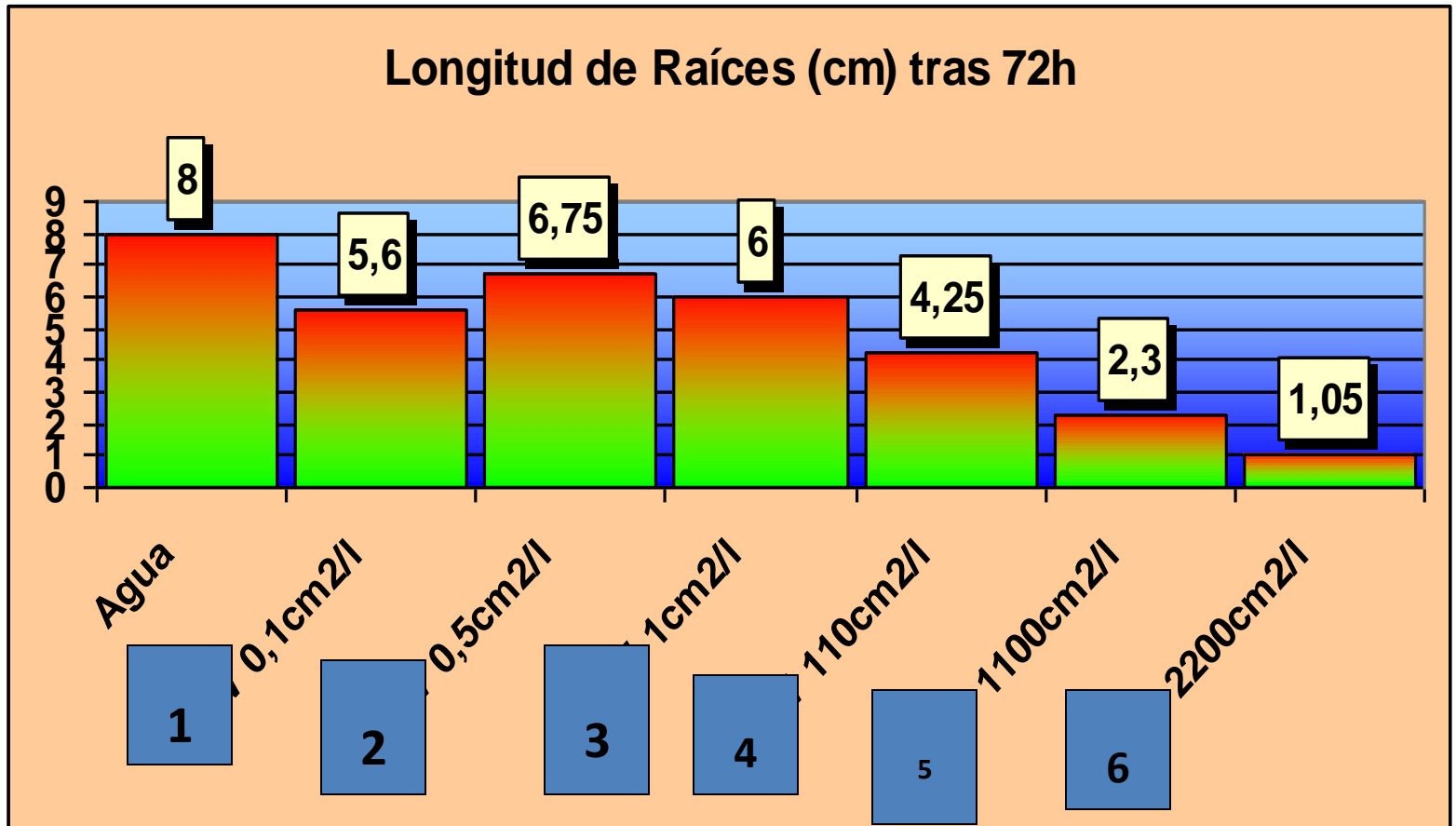


Control Índice Sin Tratar												
		Interfases (IF)	Total IF	Profases (PF)	Total PF	Metafases (MF)	Total MF	Anafases (AF)	Total AF	Telofases (TF)	Total TF	Contadas
Control A	R1.1		0		0		0		0		0	
Control A	R1.2		0		0		0		0		0	
Control A	R2.1		0		0		0		0		0	
Control A	R2.2		0		0		0		0		0	
Control B	R1.1		0		0		0		0		0	
Control B	R1.2		0		0		0		0		0	
Control B	R2.1		0		0		0		0		0	
Control B	R2.2		0		0		0		0		0	
M1	R1.1	482	482	9	9	5	5	1	1	4	4	500
M1	R1.2		482		9		5		1		4	
M1	R2.1	468	468	14	14	6	6	6	6	7	7	500
M1	R2.2		468		14		6		6		7	
M2	R1.1	468	468	19	19	5	5	1	1	7	7	500
M2	R1.2		468		19		5		1		7	
M2	R2.1	463	463	27	27	4	4	4	4	2	2	500
M2	R2.2		463		27		4		4		2	
M3	R1.1	483	483	17	17	0	0	0	0	0	0	500
M3	R1.2		483		17		0		0		0	
M3	R2.1	489	489	11	11	0	0	0	0	0	0	500
M3	R2.2		489		11		0		0		0	
M4	R1.1	475	475	25	25	0	0	0	0	0	0	500
M4	R1.2		475		25		0		0		0	
M4	R2.1	478	478	23	23	0	0	0	0	0	0	500
M4	R2.2		478		23		0		0		0	

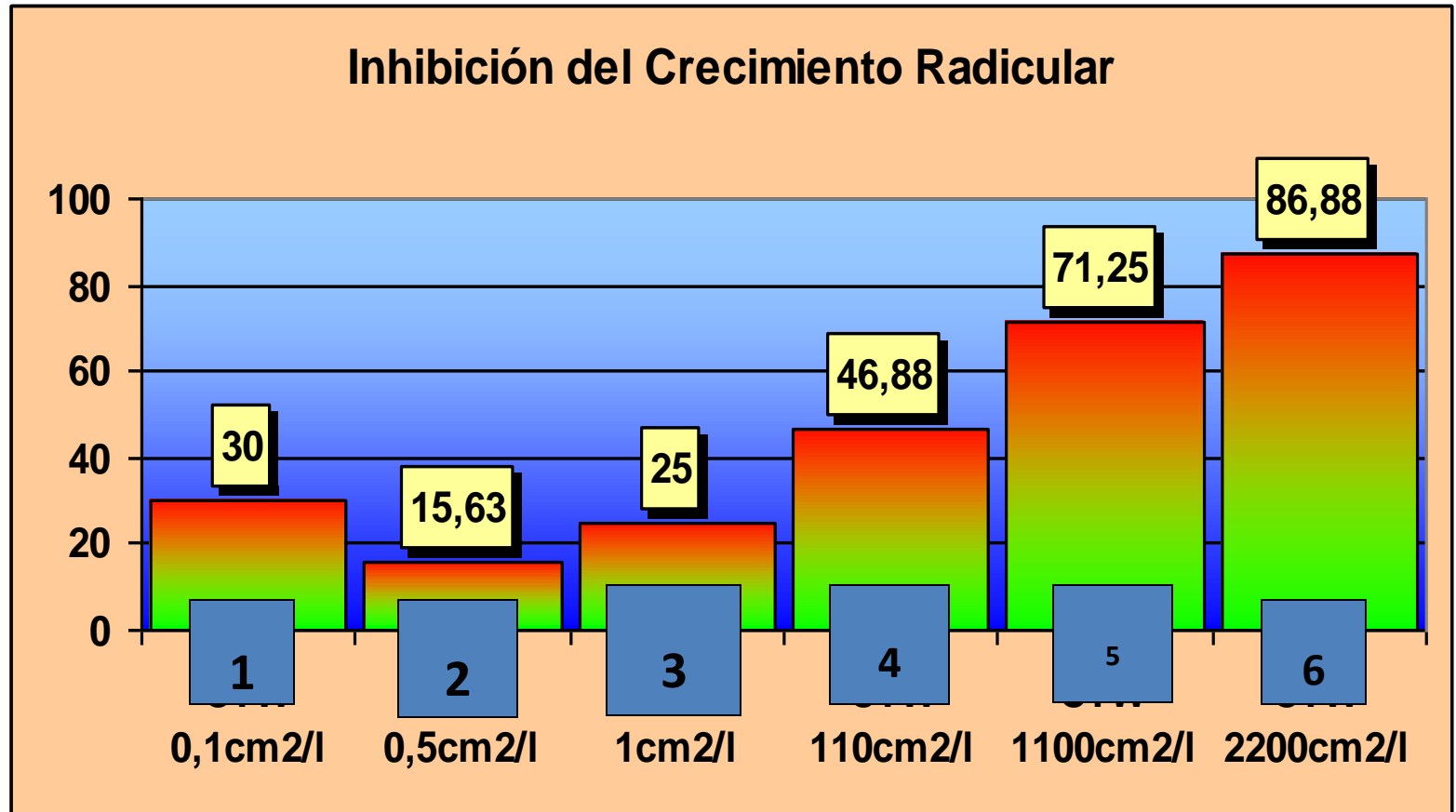


Control Índice Sin Tratar												
		Interfases (IF)	Total IF	Profases (PF)	Total PF	Metafases (MF)	Total MF	Anafases (AF)	Total AF	Telofases (TF)	Total TF	Contadas
Control A	R1.1		0		0		0		0		0	
Control A	R1.2		0		0		0		0		0	
Control A	R2.1		0		0		0		0		0	
Control A	R2.2		0		0		0		0		0	
Control B	R1.1		0		0		0		0		0	
Control B	R1.2		0		0		0		0		0	
Control B	R2.1		0		0		0		0		0	
Control B	R2.2		0		0		0		0		0	
M1	R1.1	482	482	9	9	5	5	1	1	4	4	500
M1	R1.2		482		9		5		1		4	
M1	R2.1	468	468	14	14	6	6	6	6	7	7	500
M1	R2.2		468		14		6		6		7	
M2	R1.1	468	468	19	19	5	5	1	1	7	7	500
M2	R1.2		468		19		5		1		7	
M2	R2.1	463	463	27	27	4	4	4	4	2	2	500
M2	R2.2		463		27		4		4		2	
M3	R1.1	483	483	17	17	0	0	0	0	0	0	500
M3	R1.2		483		17		0		0		0	
M3	R2.1	489	489	11	11	0	0	0	0	0	0	500
M3	R2.2		489		11		0		0		0	
M4	R1.1	475	475	25	25	0	0	0	0	0	0	500
M4	R1.2		475		25		0		0		0	
M4	R2.1	478	478	23	23	0	0	0	0	0	0	500
M4	R2.2		478		23		0		0		0	

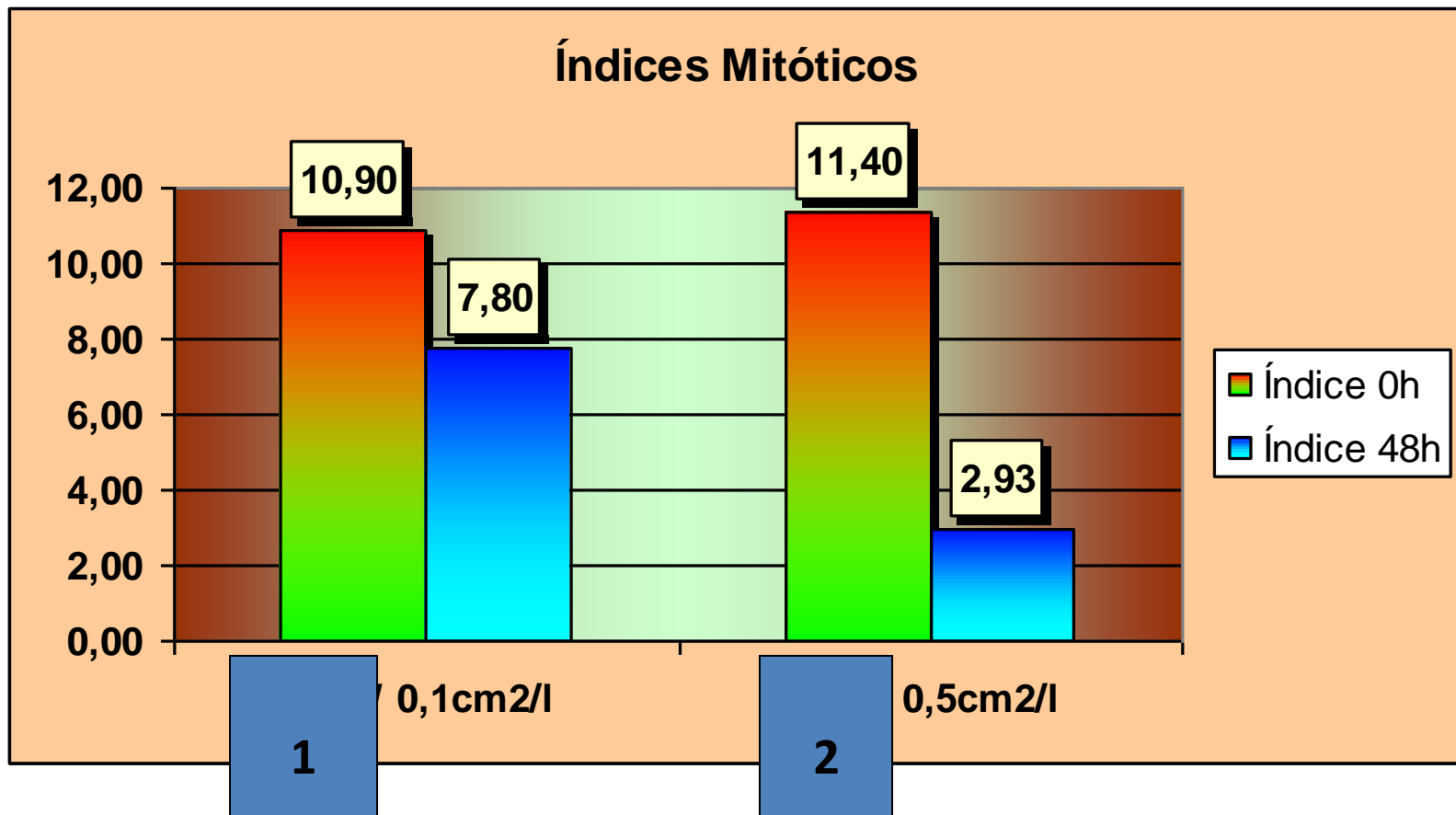
RESULTADOS *Allium cepa*:



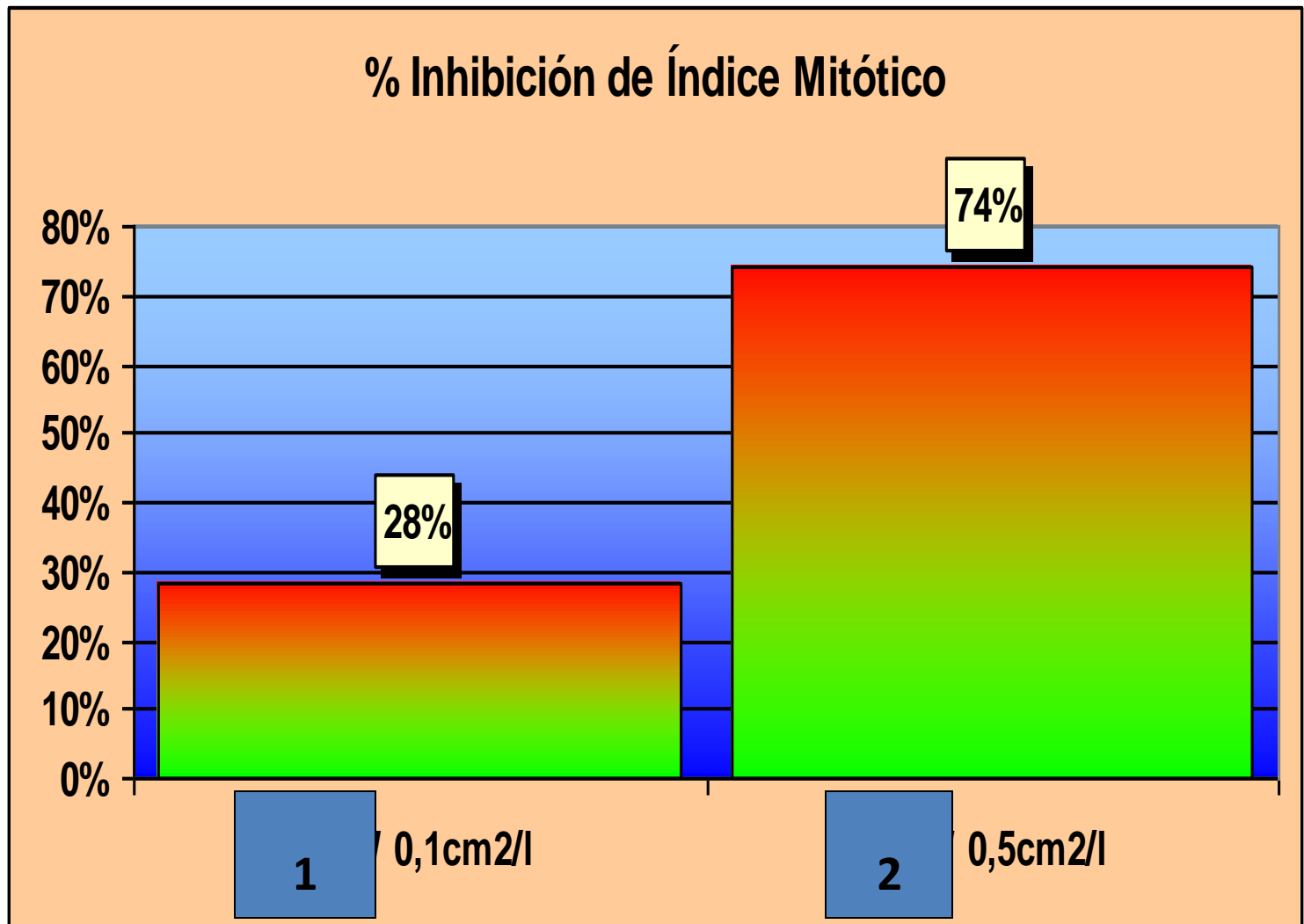
RESULTADOS *Allium cepa*:



RESULTADOS *Allium cepa*:

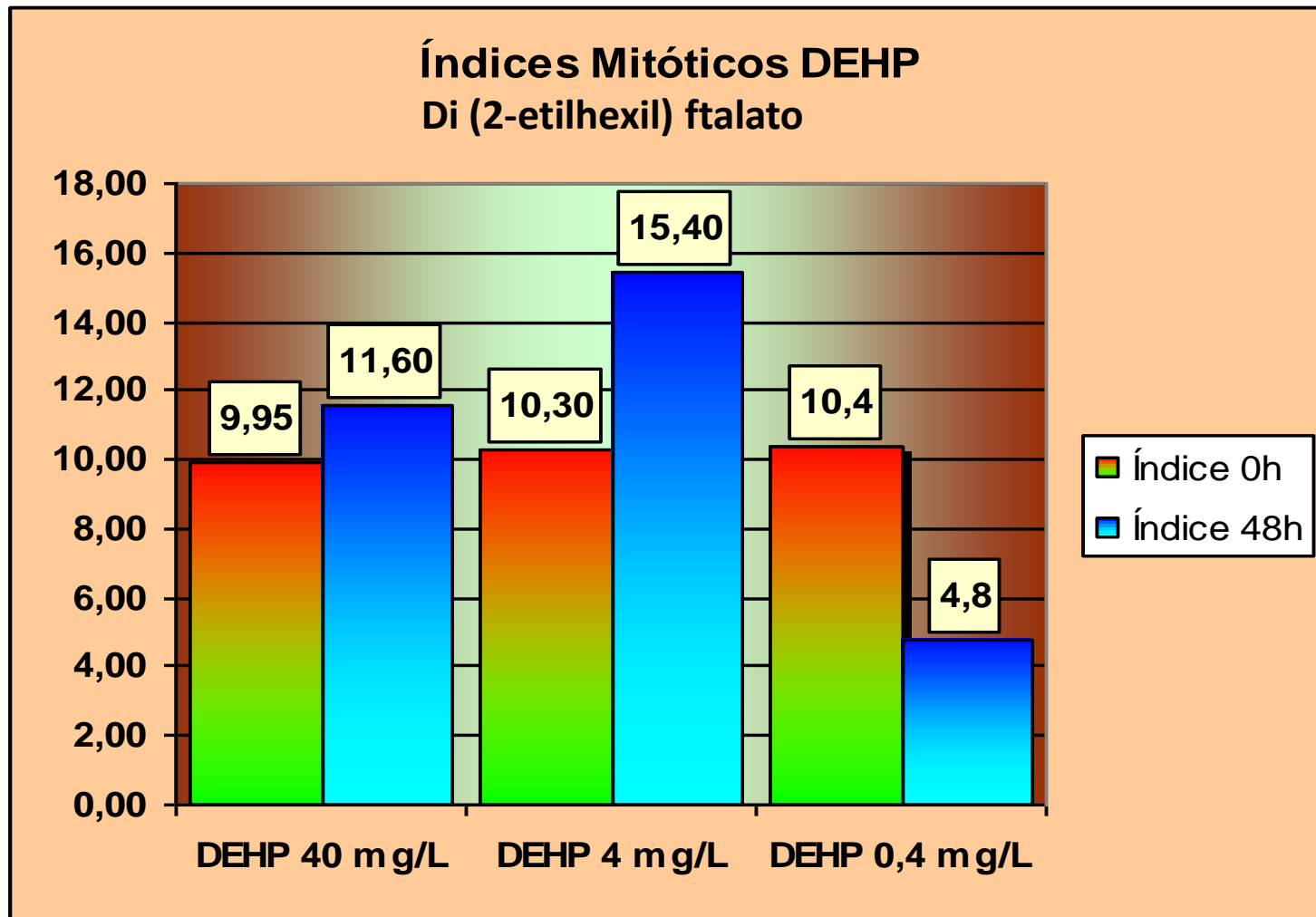


RESULTADOS *Allium cepa*:



RESULTADOS PRELIMINARES

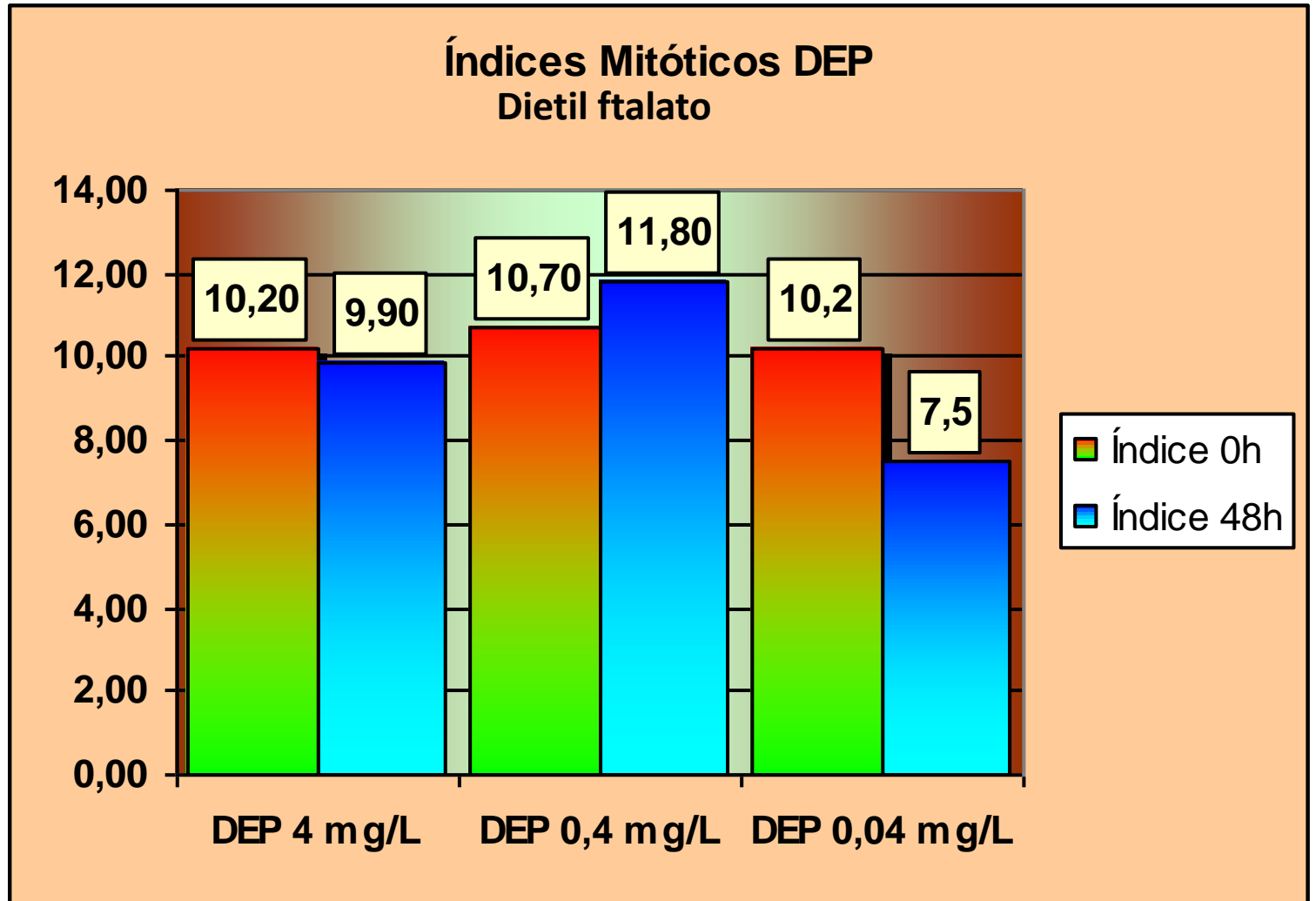
Allium cepa (2/3)



DEHP = Di (2-etilhexil) ftalato (CAS 117-81-7)

RESULTADOS PRELIMINARES

Allium cepa (3/3)

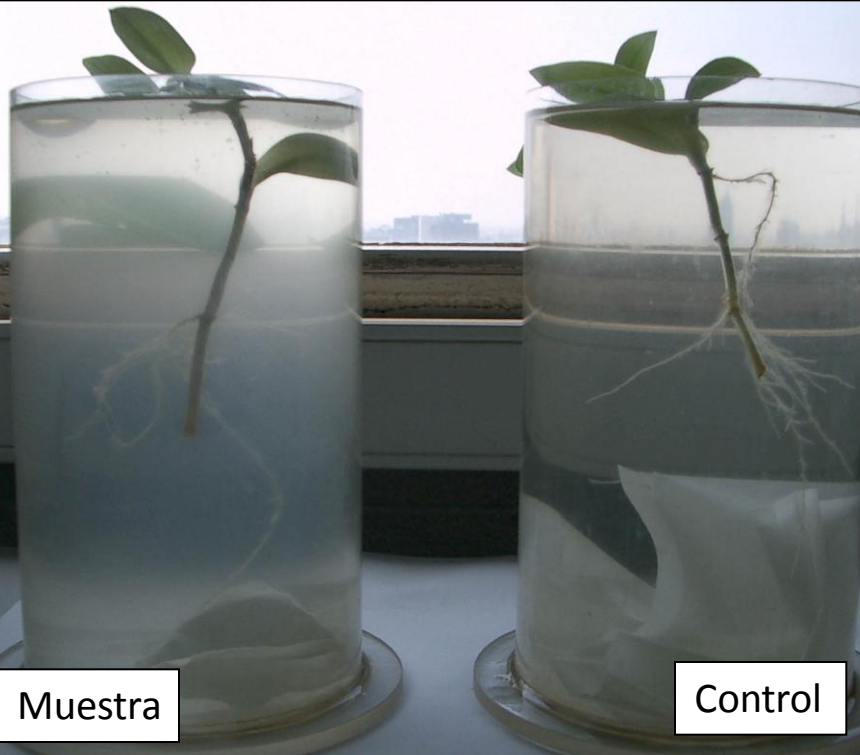


DEP = Dietil ftalato (CAS 84-66-2)

RESULTADOS *Tradescantia sp.*:

Crecimiento radicular

Día 0



Día 37



- Lote 31
- Control: papel de filtro

Test de Allium cepa

Índices Mitóticos tras 48h de Tratamiento

	Resumen				
	Total IF	Total PF	Total MF	Total AF	Total TF
Control A	0	0	0	0	0
Control B	0	0	0	0	0
M1	950	23	11	7	11
M2	931	46	9	5	9
M3	972	28	0	0	0
M4	953	48	0	0	0
M5	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0
M7	0	0	0	0	0
M8	0	0	0	0	0
M9	186	14	0	0	0
M10	183	18	0	0	0
M11	194	6	0	0	0
M12	194	6	0	0	0
M13	0	0	0	0	0

Control A	Agua
Control B	Agua
M1	CTW 0,1cm2/l
M2	CTW 0,1cm2/l
M3	CTW 0,5cm2/l
M4	CTW 0,5cm2/l
M5	CTW 1cm2/l
M6	CTW 1cm2/l
M7	CTW 110cm2/l
M8	CTW 110cm2/l
M9	CTW 1100cm2/l
M10	CTW 1100cm2/l
M11	CTW 2200cm2/l
M12	CTW 2200cm2/l



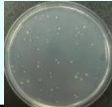
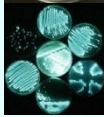
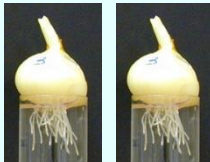
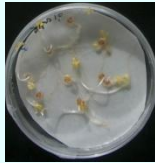
	Índice Mitótico				
	Interfases	Fases	I+F	Total Contadas	Índice
Control A	0	0	0	0	#¡DIV/0!
Control B	0	0	0	0	#¡DIV/0!
M1	950	52	1002	1000	5,2
M2	931	69	1000	1000	6,9
M3	972	28	1000	1000	2,8
M4	953	48	1001	1000	4,8
M5	0	0	0	0	#¡DIV/0!
M6	0	0	0	0	#¡DIV/0!
M7	0	0	0	0	#¡DIV/0!
M8	0	0	0	0	#¡DIV/0!
M9	186	14	200	200	6,85
M10	183	18	200	200	8,75
M11	194	6	200	200	3,05
M12	194	6	200	200	2,8
M13	0	0	0	0	#¡DIV/0!



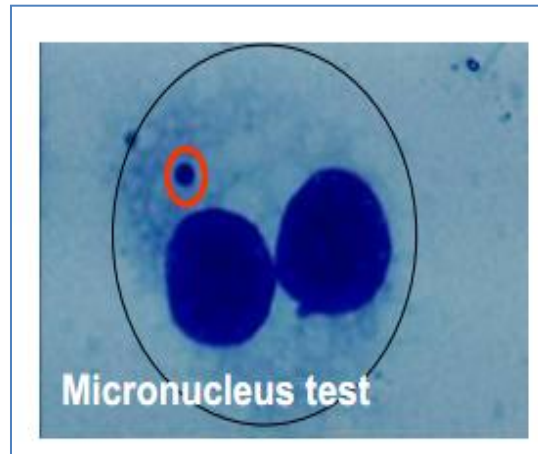
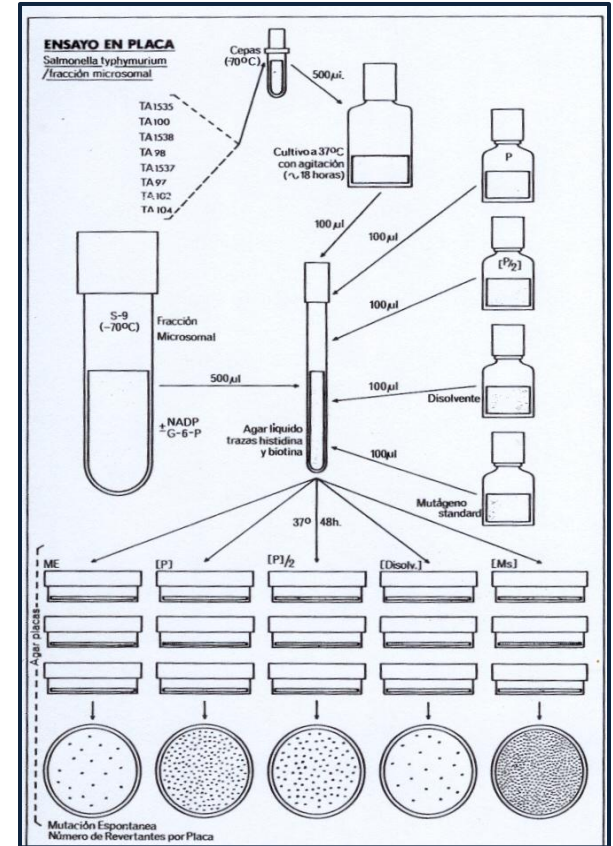
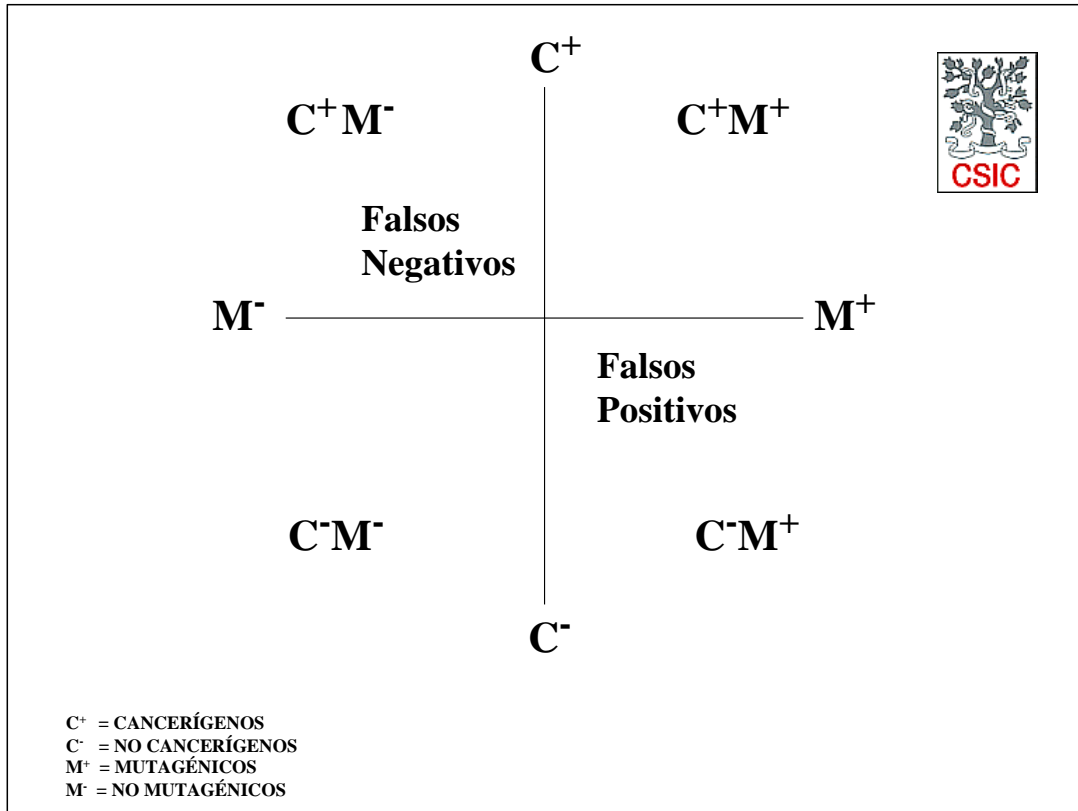
		Control Índice Sin Tratar										
		Interfases (IF)	Total IF	Profases (PF)	Total PF	Metafases (MF)	Total MF	Anafases (AF)	Total AF	Telofases (TF)	Total TF	Contadas
Control A	R1.1		0		0		0		0		0	
Control A	R1.2		0		0		0		0		0	
Control A	R2.1		0		0		0		0		0	
Control A	R2.2		0		0		0		0		0	
Control B	R1.1		0		0		0		0		0	
Control B	R1.2		0		0		0		0		0	
Control B	R2.1		0		0		0		0		0	
Control B	R2.2		0		0		0		0		0	
M1	R1.1	482	482	9	9	5	5	1	1	4	4	500
M1	R1.2		482		9		5		1		4	
M1	R2.1	468	468	14	14	6	6	6	6	7	7	500
M1	R2.2		468		14		6		6		7	
M2	R1.1	468	468	19	19	5	5	1	1	7	7	500
M2	R1.2		468		19		5		1		7	
M2	R2.1	463	463	27	27	4	4	4	4	2	2	500
M2	R2.2		463		27		4		4		2	
M3	R1.1	483	483	17	17	0	0	0	0	0	0	500
M3	R1.2		483		17		0		0		0	
M3	R2.1	489	489	11	11	0	0	0	0	0	0	500
M3	R2.2		489		11		0		0		0	
M4	R1.1	475	475	25	25	0	0	0	0	0	0	500
M4	R1.2		475		25		0		0		0	
M4	R2.1	478	478	23	23	0	0	0	0	0	0	500
M4	R2.2		478		23		0		0		0	

		Control Índice Sin Tratar										
		Interfases (IF)	Total IF	Profases (PF)	Total PF	Metafases (MF)	Total MF	Anafases (AF)	Total AF	Telofases (TF)	Total TF	Contadas
Control A	R1.1		0		0		0		0		0	
Control A	R1.2		0		0		0		0		0	
Control A	R2.1		0		0		0		0		0	
Control A	R2.2		0		0		0		0		0	
Control B	R1.1		0		0		0		0		0	
Control B	R1.2		0		0		0		0		0	
Control B	R2.1		0		0		0		0		0	
Control B	R2.2		0		0		0		0		0	
M1	R1.1	482	482	9	9	5	5	1	1	4	4	500
M1	R1.2		482		9		5		1		4	
M1	R2.1	468	468	14	14	6	6	6	6	7	7	500
M1	R2.2		468		14		6		6		7	
M2	R1.1	468	468	19	19	5	5	1	1	7	7	500
M2	R1.2		468		19		5		1		7	
M2	R2.1	463	463	27	27	4	4	4	4	2	2	500
M2	R2.2		463		27		4		4		2	
M3	R1.1	483	483	17	17	0	0	0	0	0	0	500
M3	R1.2		483		17		0		0		0	
M3	R2.1	489	489	11	11	0	0	0	0	0	0	500
M3	R2.2		489		11		0		0		0	
M4	R1.1	475	475	25	25	0	0	0	0	0	0	500
M4	R1.2		475		25		0		0		0	
M4	R2.1	478	478	23	23	0	0	0	0	0	0	500
M4	R2.2		478		23		0		0		0	

BIOENSAYOS APLICADOS

Ensayos Específicos				
Organismo de ensayo			Parámetro de expresión	
Levaduras	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		Actividad endocrina	+ / -
Peces	<i>Oryzias latipes</i>		Anormalidades en desarrollo (Teratogenia)	CE50 NOEC y LOEC 15 días
Bacterias	<i>Salmonella typhimurium</i>		Acción mutagénica	+ / -
	<i>Vibrio fischeri</i>		Inhibición luminiscencia	CE50
Plantas	<i>Allium cepa</i>		Aberraciones cromosómicas	Índice mitótico 48 h Longitud raíces 72 h
	<i>Lepidum sativum</i>		% Germinación Longitud raíces	Germinación Longitud raíces 6 días

Mutagenicidad / Carcinogenicidad





Ratas
ratones

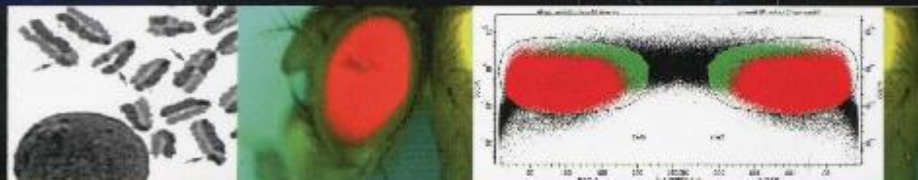


pruebas
in vivo

Methods in Pharmacology
and Toxicology


Springer Protocols

L. María Sierra
Isabel Gaivão *Editors*



Genotoxicity and DNA Repair

A Practical Approach

 Humana Press

Chapter 1

Ames Test (Bacterial Reverse Mutation Test): Why, When, and How to Use

Araceli Pillco and Eduardo de la Peña

Abstract

The *Salmonella typhimurium*/mammalian microsome assay is the most widely used short-term test to identify genetic damage. This is used to assess the mutagenic and antimutagenic potential of compounds and mixtures. This assay uses histidine-dependent strains to detect mutations, e.g., substitutions, additions, or deletions of one or several DNA nucleotides reverting originally changed gene sequence of the tester strains. The addition of a mutagenic chemical agent to a plate of cultured cells results in the growth of mutant colonies; the number of such colonies is an indicator of the mutagenic potency of the agent. The Ames test has many advantages, it is a very versatile assay, its different modifications have been developed to determine mutagenic potencies, and it is recommended by several regulatory agencies. This chapter provides a detailed description of how the standard plate incorporation method should be performed, including the experimental design and interpretation of results.

Mutagenic evaluation of trichlorfon using different assay methods with *Salmonella typhimurium*

Carmen Barrueco¹, Angustias Herrera¹ and Eduardo de la Peña



Mutation Research 414 (1998) 1-7



Genotoxicity of the insecticide rotenone in cultured human lymphocytes

Ana Guadaño^{*}, Azucena González-Coloma, Eduardo de la Peña

Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, c/ Serrano 115 dpdo, 28006 Madrid, Spain

Received 28 November 1997; revised 10 February 1998; accepted 10 February 1998

En: de la Peña E, Burgaste I, Guadaño A (1999) Evaluación Mutagénica y Genotóxica. Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica, Sociedad Española de Mutagenésis Ambiental, MRCA198. Madrid. 249-260

MULTICOLOR FISH USING TANDEM PROBES TO DETECT CHROMOSOME ALTERATIONS IN HUMANS CELLS AND POPULATIONS EXPOSED TO GENOTOXIC AGENTS

DAVID A. EASTMOND¹, DOPPALAPUDI S. RUPA¹, MAIK J. SCHULER¹, MICHELLE N. MURG¹ AND EDUARDO DE LA PEÑA²

¹Environmental Toxicology Graduate Program, University of California Riverside, U.S.A.
²Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Ciencias Medioambientales.

Environmental and Molecular Mutagenesis 20:218-222 (1992)

Effect of Permethrin on the Induction of Sister Chromatid Exchanges and Micronuclei in Cultured Human Lymphocytes

Angustias Herrera, Carmen Barrueco, Covadonga Caballo, and Eduardo de la Peña
Centro Nacional de Sanidad Ambiental, Instituto de Salud Carlos III (A.H., C.B., C.C.) and Centro de Ciencias Medioambientales, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (E.d.l.P.), Madrid, Spain

Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis 14:31-38 (1994)

Induction of Structural Chromosome Aberrations in Human Lymphocyte Cultures and CHO Cells by Permethrin

Carmen Barrueco, Angustias Herrera, Covadonga Caballo, and Eduardo de la Peña

Toxicology in Vitro 22 (2008) 1228-1233

Contents lists available at ScienceDirect

Toxicology in Vitro

journal homepage: www.elsevier.com/locate/toxinvit

In vitro assessment of the cytotoxic and mutagenic potential of perfluorooctanoic acid

P. Fernández Freire^a, J.M. Pérez Martín^a, O. Herrero^{a,b}, A. Peropadre^a, E. de la Peña^b, M.J. Hazen^{a,*}

^aDepartamento de Biología, Edificio de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, C/Darwin, 2, Cantoblanco, 28049 Madrid, Spain
^bGrupo de Mutagenésis Ambiental, Centro de Ciencias Medioambientales CSIC, 28006 Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:
Received 7 February 2008
Accepted 9 April 2008
Available online 15 April 2008

Keywords:
Perfluorooctanoic acid
Cytotoxicity
Mutagenicity
In vitro bioassays

ABSTRACT

Perfluorooctanoic acid (PFOA) is a perfluorinated compound ubiquitously detected in the environment, including wildlife and humans. Despite the available information, research on the cytotoxicity of PFOA in non-tumoral mammalian cells is relatively limited. In this work, two *in vitro* toxicity systems were employed to provide further insight into the cytotoxic and mutagenic potential of PFOA. The cytotoxicity of the chemical towards Vero cells was assessed using biochemical and morphological parameters, while mutagenicity was evaluated according to Ames test. High doses of PFOA cause oxidative stress in Vero cells, that was closely linked to cell cycle arrest at the G1 phase and induction of apoptosis. Our results corroborate previous findings in human tumoral cells and suggest that the mode of action of this perfluorinated compound is not a peculiarity among mammalian cell types. On the other hand, the compound was not mutagenic in the Ames test, using four strains of *Salmonella typhimurium* in the presence or absence of rat S9 metabolic activation system.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Cell Biology in Environmental Toxicology
M.F. Cajaville, editor, pp. 289-299
I.S.B.N.: 84-7385-666-7
Copyright © 1995 University of the Basque Country Press Service, Bilbao
All rights of reproduction in any form reserved

Chapter 12

Genotoxic and cytotoxic effects of pesticides

E. de la Peña, C. Barrueco, A. Herrera and C. Caballo
CSIC, Centro de Ciencias Medioambientales, Mutagenésis Ambiental/Genotoxicología,
C/ Serrano 115, apdo, 28006 Madrid, España

Es mejor ***conocer*** que un
efecto tóxico **no existe**
que ***ignorar*** que un efecto
tóxico **no existe**



Grupo de Mutagenesis Ambiental

ICA - Centro de Ciencias Medioambientales
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Evaluación **genotóxica** de productos químicos naturales y sintéticos, residuos orgánicos, contaminantes mediante ensayos de corta duración utilizando **sistemas bacterianos** (*Salmonella/microsoma*) y cultivos *in vitro* e *in vivo* de **células vegetales** (*Allium cepa*) y **células de mamífero** (linfocitos de sangre periférica humana, CHO).

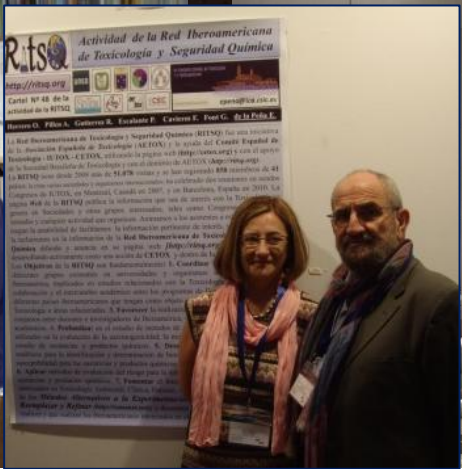
Ensayos *in vitro* e *in vivo* integrados en el desarrollo y validación de métodos complementarios alternativos a la experimentación animal.

Dr. Eduardo de la Peña de Torres. Investigador del CSIC
Da. Antonia Martínez López

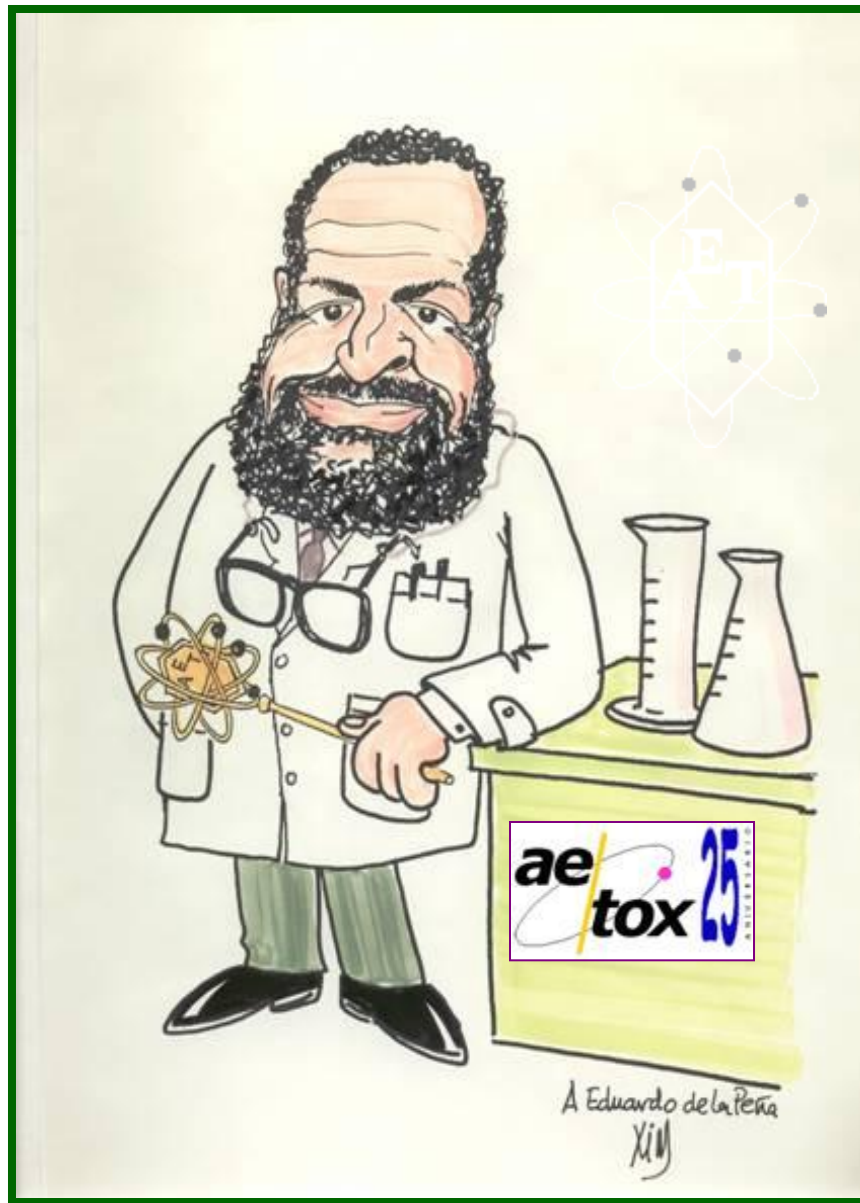
epena@ica.csic.es

Mi sincero agradecimiento a las personas que han trabajado en nuestro Laboratorio* o colaborando + en nuestras actividades:

- * **Dra. Araceli Pillco de Bolivia** (2009 -2011),
- * **Master Irania Velazquez, Labiofarm Cuba**
- + **Dra. Fernanda Cavieres, Univ. Valparaíso. Chile**
- + **Dra. Rita Gutierrez, de México**
- + **Dra. Silvia Bechara de Colombia**
- + **Dra. Guillermina Font, Universidad de Valencia**
- * **Da. Antonia Martínez Colaboradora del CSIC**



Trabajaron en el Grupo de Mutagenésis Ambiental, para la realización de sus Tesis Doctorales:
Dra. Carmen Barrueco, Dra. Carmen Canga
Dr. Pedro Gutierrez, Dra. Angustias Herrera,
Dra. Victoria Castaño y Dra. Elna Valcarce.

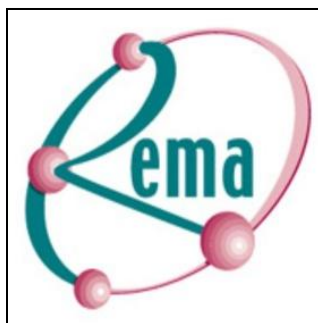


Gracias por vuestra atención

epena@ica.csic.es



www.aetox.es



www.remanet.net



www.sanidadambiental.com



www.us.es/sema



<http://csic.es>

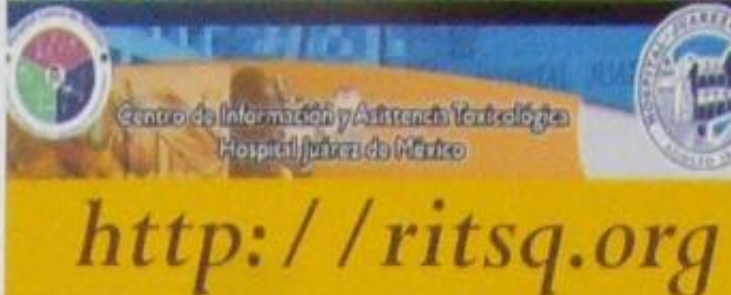
Red Iberoamericana de
Toxicología y Seguridad Química



<http://ritsq.org>

epena@ica.csic.es

Ritsq



<http://ritsq.org>



<http://ritsq.org>

P. Escalante; VN. Mendoza; AL Rodriguez; G. López Orozco; JC Madrigal; O. Herrero; A. Pillco; P. Fdez-Freire; MJ. Hazen; M^a F. Cavieres; G. Font; **E. de la Peña (epena@ica.csic.es)**

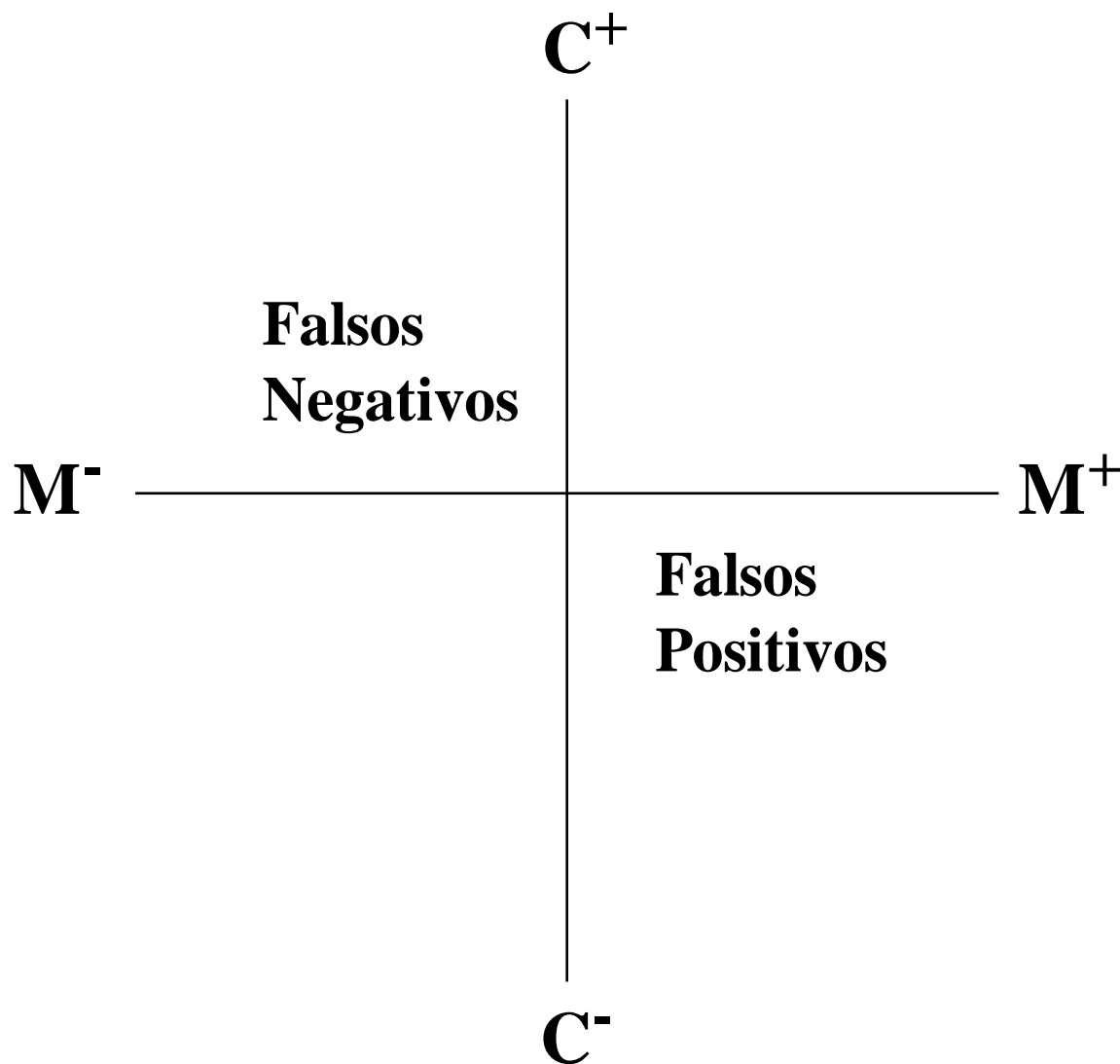
partir de 2005 iniciamos la Red Iberoamericana de Toxicología y Seguridad Química con la ayuda del Comité Español de Toxicología (CETox), utilizando como página web (<http://cetox.org/>). En colaboración con la Sociedade Brasileira de Toxicología y la Asociación Española de Toxicología (AFET) se realizó una reunión Promotora en XI Agosto de 2006 en Santiago de Chile. En esta reunión hemos presentado 7 conferencias: 2 Argentina, 3 Brasil, 1 Chile, 1 Cuba, 8 España, 4 México, 2 Portugal y 1 Uruguay. Se realizaron 2 reuniones de la RITSQ (2006 y 2007).



Nº Carteles*/Registrados/Visitas

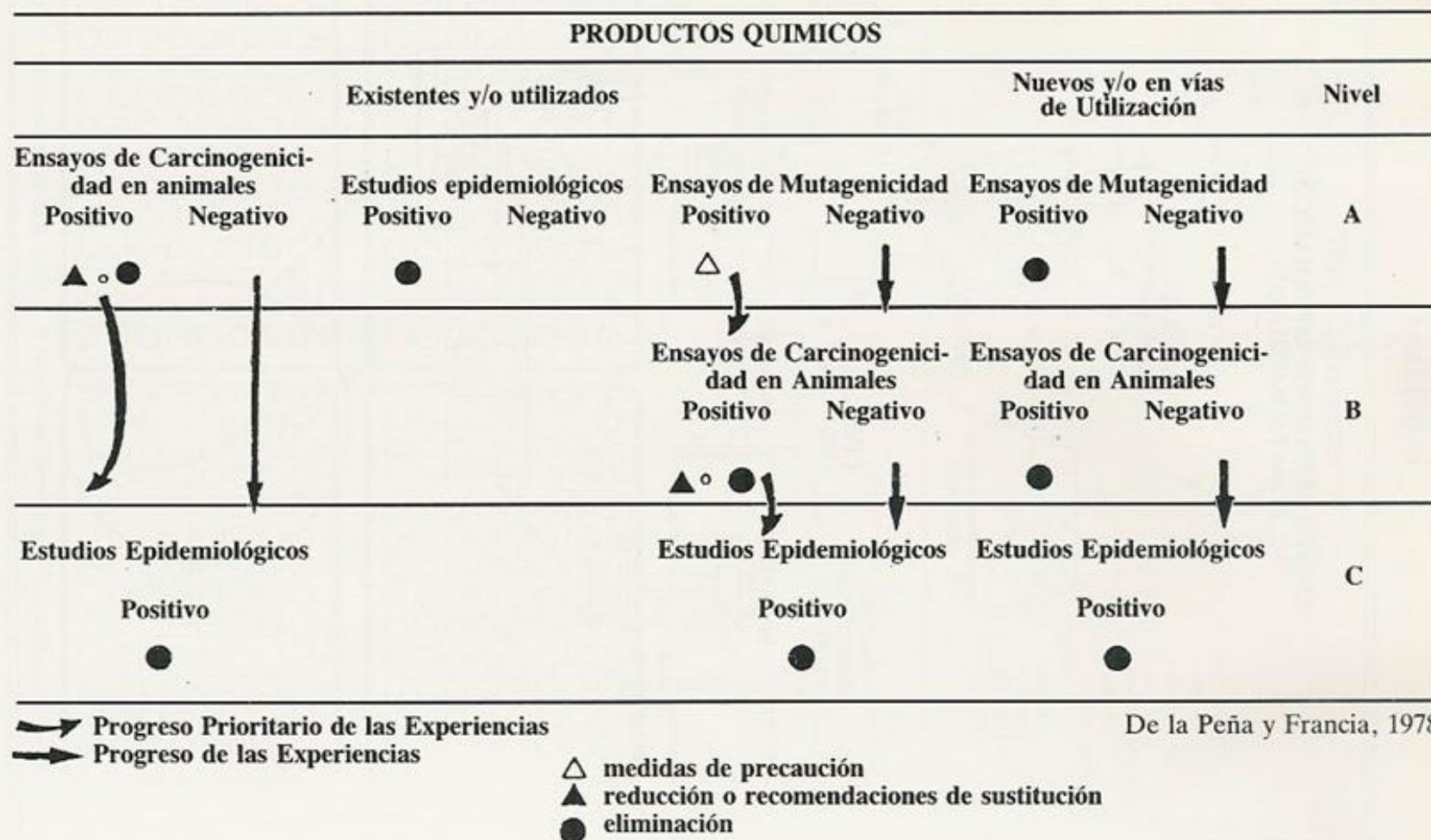
66.906 visitas

8* ...
Iberoamericana de Toxicología
... julio 2010 Barcelona. Es
... toxicología
Mont...

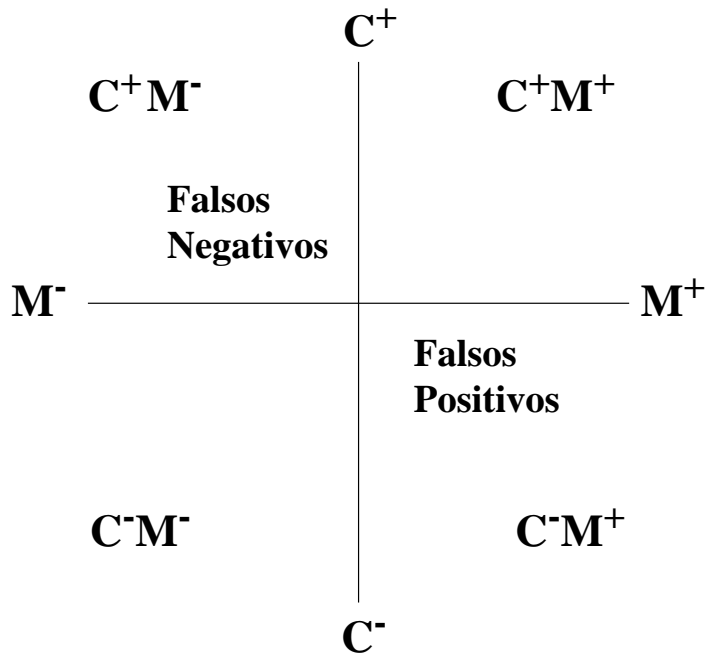


C^+ = CANCERÍGENOS
 C^- = NO CANCERÍGENOS
 M^+ = MUTAGÉNICOS
 M^- = NO MUTAGÉNICOS

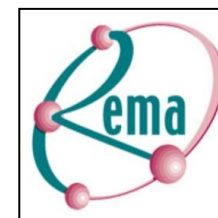
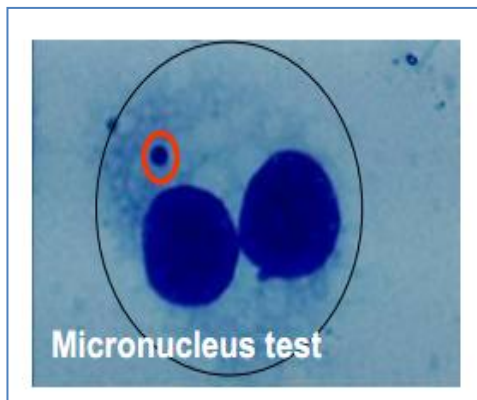
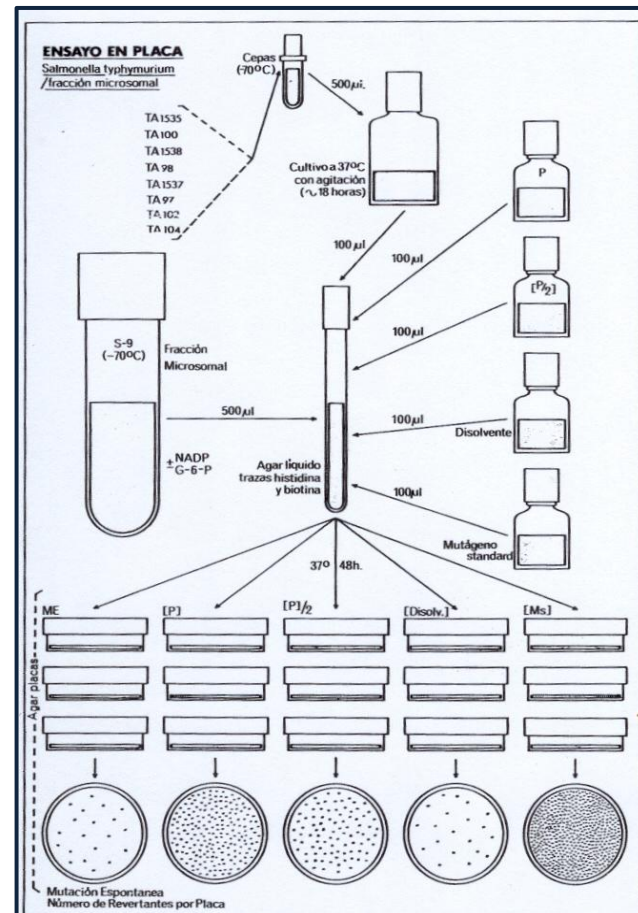
FIGURA 6. MEDIDAS A CONSIDERAR DE ACUERDO CON LAS EVIDENCIAS DEL RIESGO CARCINOGENICO DE LOS PRODUCTOS QUIMICOS PARA EL HOMBRE

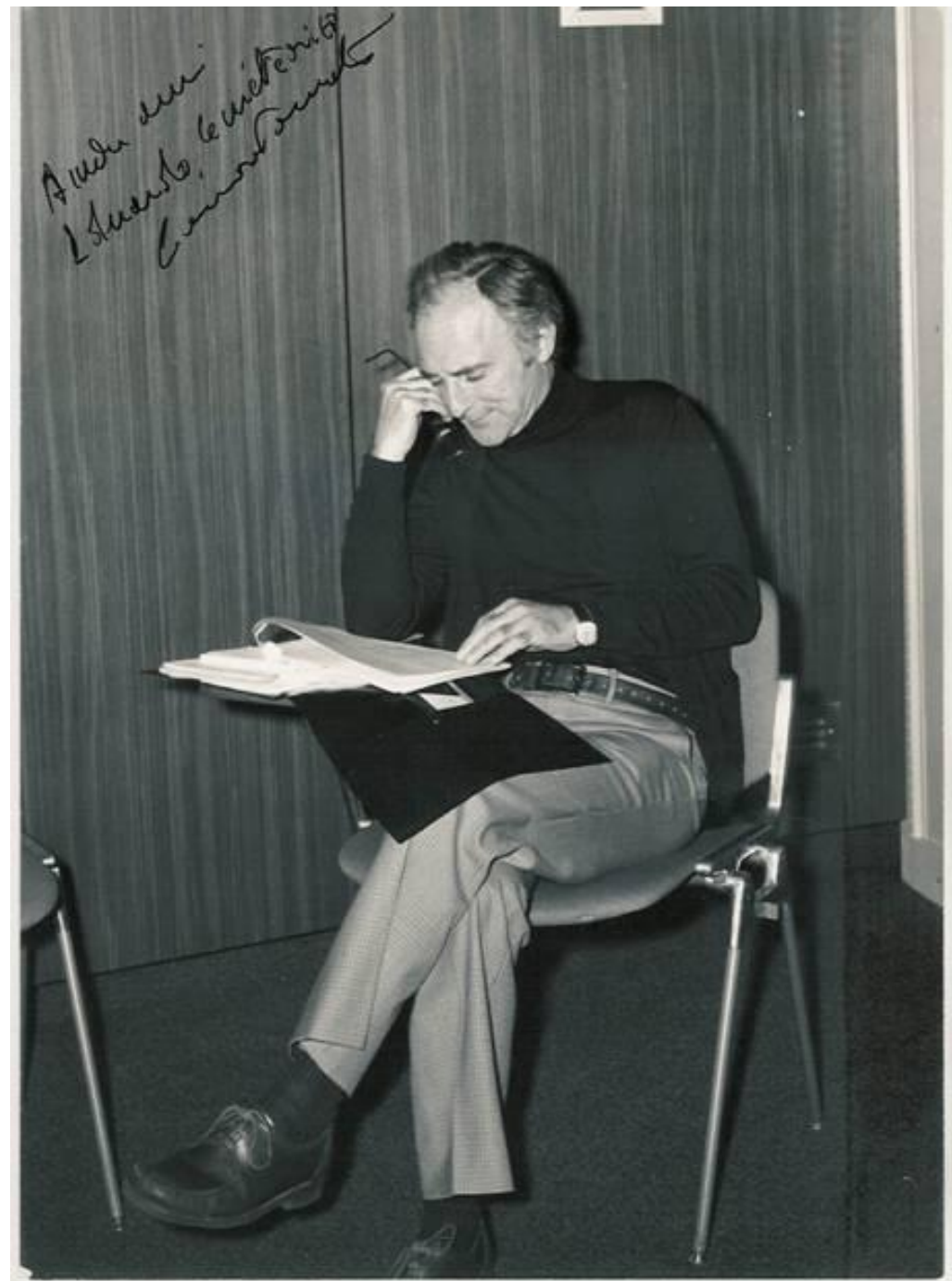
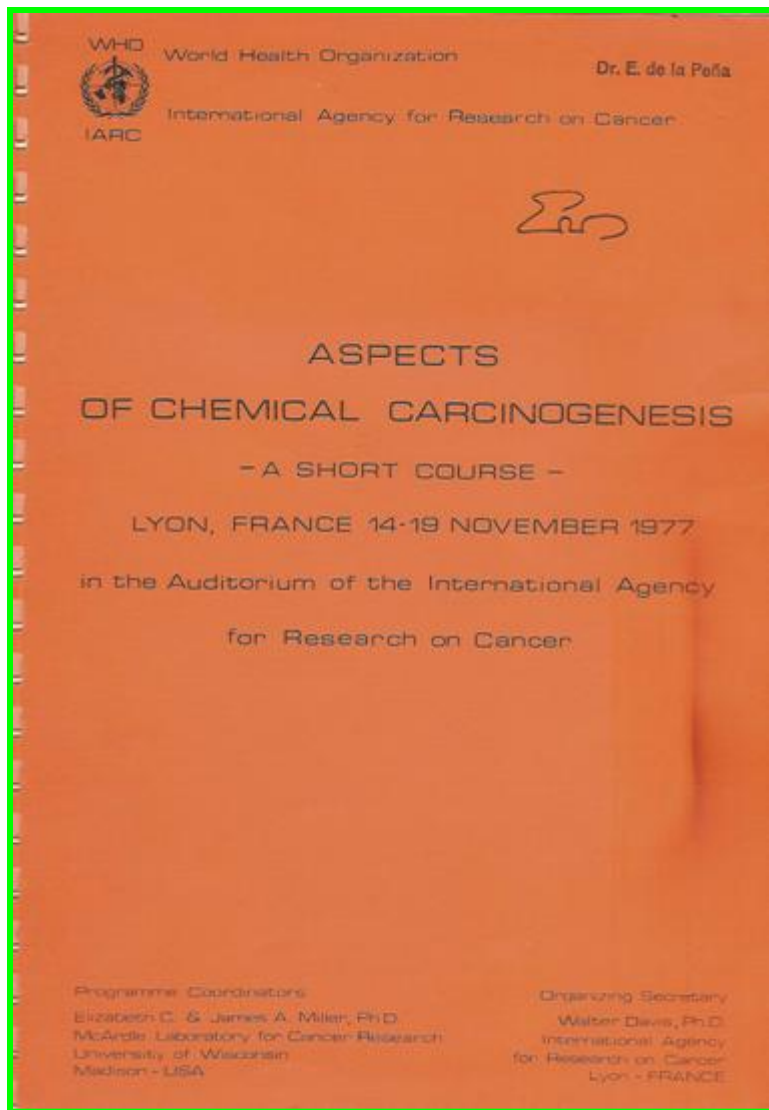


Mutagenicidad / Carcinogenicidad



C^+ = CANCERÍGENOS
 C^- = NO CANCERÍGENOS
 M^+ = MUTAGÉNICOS
 M^- = NO MUTAGÉNICOS





Programa desde 1971 de la
Agencia Internacional para la
Investigación del Cáncer
Lyon. Francia **WHO – IARC**

1977

WORLD HEALTH
ORGANIZATION



ORGANISATION MONDIALE
DE LA SANTÉ

CENTRE INTERNATIONAL DE RECHERCHE SUR LE CANCER
INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER

150, COURS ALBERTI-THOMAS - 69372, LYON Cédex 2 - FRANCE
Tel. (78) 75 81 81 - Télégr. Unicancer Lyon - Téléc. 380023 -

In reply please refer to : CHENCA/TST

Prise de rappeler la référence :

TO WHOM IT MAY CONCERN

Dr E. de la Peña de Torres spent a four month fellowship period in the Unit of Chemical Carcinogenesis of the IARC in 1977. During this period he carried out experimental work in the field of mutagenesis and chemical carcinogenesis with the specific aim of acquiring experience in methods related to the identification of environmental carcinogens.

I am pleased to acknowledge that Dr de la Peña de Torres has proved to possess a good theoretical background, an excellent technical ability and the capacity of rapidly understanding and mastering new laboratory techniques.

Furthermore, with the assistance of several members of our staff, he developed a plan for the establishment of a programme on the study of chemical carcinogenesis in Spain. This programme, aimed at providing useful data on which to base the implementation of primary prevention of cancer in humans, is based on the collection, retrieval and dissemination of existing information, as well as on the initiation of experimental studies of importance to the specific situation in his country. The programme is well conceived and takes into consideration a multidisciplinary approach to the prevention of cancer. As outlined, the project may have to be started on a limited scale, but should be expanded considerably in the future.

L. Tomatis, M.D.
Chief
Unit of Chemical Carcinogenesis

18 November 1977



2007

Programa desde 1971 de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. Lyon. Francia **WHO – IARC**

International Agency for Research on Cancer

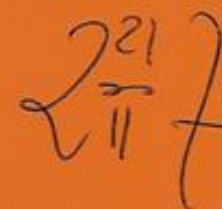


IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans

AGENTS CLASSIFIED BY THE IARC MONOGRAPHS, VOLUMES 109

Group 1	<i>Carcinogenic to humans</i>	113 agents
Group 2A	<i>Probably carcinogenic to humans</i>	66
Group 2B	<i>Possibly carcinogenic to humans</i>	285
Group 3	<i>Not classifiable as to its carcinogenicity to humans</i>	505
Group 4	<i>Probably not carcinogenic to humans</i>	1

WORLD HEALTH ORGANIZATION
INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER



IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans

VOLUME 88

Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol



LYON, FRANCE
2006



I

(Actos adoptados en aplicación de los Tratados CE/Euratom cuya publicación es obligatoria)

REGLAMENTOS

REGLAMENTO (CE) N° 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO

de 16 de diciembre de 2008

sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas, y por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) n° 1907/2006

(Texto pertinente a efectos del EEE)

EL PARLAMENTO EUROPEO Y EL CONSEJO DE LA UNIÓN EUROPEA,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea y, en particular, su artículo 95,

Vista la propuesta de la Comisión,

Visto el dictamen del Comité Económico y Social Europeo ⁽¹⁾,

De conformidad con el procedimiento establecido en el artículo 251 del Tratado ⁽²⁾,

Considerando lo siguiente:

- (1) Con el presente Reglamento se pretende garantizar un elevado nivel de protección de la salud humana y del medio ambiente, así como la libre circulación de sustancias químicas, mezclas y ciertos artículos específicos, a la vez que se fomentan la competitividad y la innovación.
- (2) El funcionamiento eficaz del mercado interior de sustancias y mezclas y de los citados artículos solo se puede conseguir si los requisitos que todos ellos deben cumplir no difieren de forma significativa entre Estados miembros.
- (3) Al aproximar las legislaciones sobre los criterios de clasificación y etiquetado de sustancias y mezclas, hay que garantizar un elevado nivel de protección de la salud humana y del medio ambiente, con el fin de lograr un desarrollo sostenible.
- (4) El comercio de sustancias y mezclas no solo es una cuestión del mercado interno, sino también del mercado mundial.

⁽¹⁾ DO C 204 de 9.8.2008, p. 47.

⁽²⁾ Dictamen del Parlamento Europeo de 3 de septiembre de 2008 (no publicado aún en el Diario Oficial).

Por ello, las empresas se beneficiarán de la armonización mundial de las reglas de clasificación y etiquetado y de la coherencia entre las destinadas al suministro y el uso, por una parte, y las destinadas al transporte, por otra.

- (5) Para facilitar el comercio mundial, al tiempo que se protege la salud humana y el medio ambiente, se han venido desarrollando cuidadosamente, durante doce años, criterios armonizados de clasificación y etiquetado en la estructura de las Naciones Unidas, lo que ha dado lugar al Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (en lo sucesivo, «SGA»).
- (6) En el presente Reglamento se plasman diversas declaraciones de la Comunidad afirmando su intención de contribuir a la armonización mundial de los criterios de clasificación y etiquetado, no solo a escala de las Naciones Unidas, sino también mediante la incorporación a la legislación comunitaria de los criterios del SGA acordados internacionalmente.
- (7) Las ventajas para las empresas aumentarán conforme más países del mundo vayan incorporando los criterios del SGA a su legislación. La Comunidad debe liderar este proceso para animar a otros países a hacerlo y con el fin de ofrecer una ventaja competitiva a la industria comunitaria.
- (8) Por ello es esencial armonizar las disposiciones y los criterios de clasificación y etiquetado de las sustancias, las mezclas y ciertos artículos específicos en la Comunidad, teniendo en cuenta los criterios de clasificación y las normas de etiquetado del SGA, pero también apoyándose en los 40 años de experiencia en la aplicación de la legislación comunitaria existente sobre productos químicos

ANEXO

PARTE B: MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD Y OTROS EFECTOS SOBRE LA SALUD

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL DE LA PARTE B	143
B.1 bis. TOXICIDAD ORAL AGUDA. MÉTODO DE DOSIS FIJAS	145
B.1 ter. TOXICIDAD ORAL AGUDA. MÉTODO DE LAS CLASES DE TOXICIDAD AGUDA	158
B.2. TOXICIDAD AGUDA POR INHALACIÓN	174
B.3. TOXICIDAD AGUDA POR VÍA CUTÁNEA	178
B.4. TOXICIDAD AGUDA: IRRITACIÓN/CORROSIÓN CUTÁNEA	182
B.5. TOXICIDAD AGUDA: IRRITACIÓN/CORROSIÓN OCULAR	191
B.6. SENSIBILIZACIÓN DE LA PIEL	202
B.7. TOXICIDAD POR ADMINISTRACIÓN CONTINUADA (28 DÍAS) POR VÍA ORAL	210
B.8. TOXICIDAD POR ADMINISTRACIÓN CONTINUADA (28 DÍAS) POR INHALACIÓN	216
B.9. TOXICIDAD POR ADMINISTRACIÓN CONTINUADA (28 DÍAS) VÍA CUTÁNEA	221
B.10. MUTAGENICIDAD — ENSAYO DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS IN VITRO EN MAMÍFEROS ..	225
B.11. MUTAGENICIDAD — ENSAYO DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS IN VIVO EN MÉDULA ÓSEA DE MAMÍFEROS	233
B.12. MUTAGENICIDAD — ENSAYO DE MICRONÚCLEOS EN ERITROCITOS DE MAMÍFERO IN VIVO ...	240
B.13/14. MUTAGENICIDAD — ENSAYO DE MUTACIÓN INVERSA EN BACTERIAS	248
B.15. ENSAYOS DE MUTAGÉNESIS Y DETECCIÓN DE CARCINOGENÉESIS — MUTACIÓN GÉNICA — SACCHAROMYCES CEREVISIAE	256
B.16. RECOMBINACIÓN MITÓTICA — SACCHAROMYCES CEREVISIAE	259
B.17. MUTAGENICIDAD — ENSAYO DE MUTACIÓN GÉNICA DE CÉLULAS DE MAMÍFERO IN VITRO ...	262
B.18. LESIÓN Y REPARACIÓN DE DNA — SÍNTESIS DE DNA NO PROGRAMADA — CÉLULAS DE MAMÍFEROS IN VITRO	271
B.19. ENSAYO IN VITRO DE INTERCAMBIO DE CROMÁTIDAS HERMANAS	275
B.20. ENSAYO DE LETALIDAD RECESIVA LIGADA AL SEXO EN DROSOPHILA MELANOGASTER	279
B.21. ENSAYO DE TRANSFORMACIÓN DE CÉLULAS DE MAMÍFERO IN VITRO	282
B.22. ENSAYO DE LETALIDAD DOMINANTE EN ROEDORES	285
B.23. ENSAYO DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN ESPERMATOGONIAS DE MAMÍFERO	288
B.24. ENSAYO DE LA MANCHA EN EL RATÓN	295

EVALUACIÓN MUTAGÉNICA Y GENOTÓXICA DE LOS PRODUCTOS QUÍMICOS

C. BARRUECO¹, A. GUADAÑO², C. CABALLO³, A. HERRERA³, E. VALCARCE³, E. DE LA PEÑA²

1) Centro Nacional de Alimentación, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda.

2) Grupo de Genotoxicología y Mutagénesis Ambiental, Centro de Ciencias Medioambientales, Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

3) Subdirección de Sanidad Ambiental, Ministerio de Sanidad y Consumo.

RESUMEN

Se hace una exposición de las exigencias de evaluación toxicológica de los productos químicos o sustancias, centrada en la demanda de ensayos de mutagenicidad.

Se describe la estrategia de evaluación mutagénica seguida con los productos químicos, mostrándose los diferentes ensayos de mutagenicidad y genotoxicidad, reconocidos por la Unión Europea y homologados por la OCDE.

Se contemplan las estrategias de evaluación mutagénica seguidas con los plaguicidas y biocidas así como la demanda de estudios de mutagenicidad requeridos para la caracterización de los residuos tóxicos y peligrosos.

Se presenta la clasificación de las sustancias según sus propiedades mutagénicas, haciendo hincapie en las pruebas requeridas para dicha clasificación así como en la importancia de los datos de genotoxicidad para la clasificación cancerígena.

Se señala la contribución de los ensayos de mutagenicidad y genotoxicidad en la evaluación del riesgo de los productos químicos y su gran aportación como métodos alternativos.

Tabla 5. Ensayos de mutagenicidad y genotoxicidad incluidos en las Monografías del IARC*

Endpoint ^a	Code	Definition	Endpoint ^a	Code	Definition
NONMAMMALIAN SYSTEMS			Lower eukaryotic systems		
<i>Prokaryotic systems</i>					
D	PRB	Prophage, induction, SOS repair test, DNA strand breaks, cross-links or related damage	D	SSB	<i>Saccharomyces</i> species, DNA strand breaks, cross-links or related damage
D	ECB	<i>Escherichia coli</i> (or <i>E. coli</i> DNA), DNA strand breaks, cross-links or related damage; DNA repair	D	SSD	<i>Saccharomyces</i> species, DNA repair-deficient strains, differential toxicity
D	SAD	<i>Salmonella typhimurium</i> , DNA repair-deficient strains, differential toxicity	D	SZD	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> , DNA repair-deficient strains, differential toxicity
D	ECD	<i>Escherichia coli</i> pol A/W3110-P3478, differential toxicity (spot test)	R	SCG	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , gene conversion
D	ECL	<i>Escherichia coli</i> pol A/W3110-P3478, differential toxicity (liquid suspension test)	R	SCH	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , homozygosis by mitotic recombination or gene conversion
D	ERD	<i>Escherichia coli</i> rec strains, differential toxicity	R	SZG	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> , gene conversion
D	BSD	<i>Bacillus subtilis</i> rec strains, differential toxicity	R	ANG	<i>Aspergillus nidulans</i> , genetic crossing-over
D	BRD	Other DNA repair-deficient bacteria, differential toxicity	G	SCF	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , forward mutation
G	BPF	Bacteriophage, forward mutation	G	SCR	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , reverse mutation
G	RPR	Bacteriophage, reverse mutation	G	SGR	<i>Streptomyces griseoflavus</i> , reverse mutation
G	SAF	<i>Salmonella typhimurium</i> , forward mutation	G	STF	<i>Streptomyces coelicolor</i> , forward mutation
G	SA0	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100, reverse mutation	G	STR	<i>Streptomyces coelicolor</i> , reverse mutation
G	SA2	<i>Salmonella typhimurium</i> TA102, reverse mutation	G	SZF	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> , forward mutation
G	SA3	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1538, reverse mutation	G	SZR	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> , reverse mutation
G	SA4	<i>Salmonella typhimurium</i> TA104, reverse mutation	G	ANF	<i>Aspergillus nidulans</i> , forward mutation
G	SA5	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535, reverse mutation	G	ANR	<i>Aspergillus nidulans</i> , reverse mutation
G	SA7	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1537, reverse mutation	G	NCF	<i>Neurospora crassa</i> , forward mutation
G	SA8	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1538, reverse mutation	G	NCR	<i>Neurospora crassa</i> , reverse mutation
G	SA9	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, reverse mutation	G	PSM	<i>Paramecium</i> species, mutation
G	SAS	<i>Salmonella typhimurium</i> (other miscellaneous strains), reverse mutation	C	PSC	<i>Paramecium</i> species, chromosomal aberrations
G	ECF	<i>Escherichia coli</i> exclusive of strain K12, forward mutation	A	SCN	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , aneuploidy
G	ECK	<i>Escherichia coli</i> K12, forward or reverse mutation	A	ANN	<i>Aspergillus nidulans</i> , aneuploidy
G	ECW	<i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i> , reverse mutation	A	NCN	<i>Neurospora crassa</i> , aneuploidy
G	EC2	<i>Escherichia coli</i> WP2, reverse mutation	Plant systems		
G	ECR	<i>Escherichia coli</i> (other miscellaneous strains), reverse mutation	D	PLU	Plants, unscheduled DNA synthesis
G	BSM	<i>Bacillus subtilis</i> , multigene test	G	ASM	<i>Arabidopsis</i> species, mutation
G	KPF	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , forward mutation	G	HSM	<i>Hordeum</i> species, mutation
G	MAF	<i>Micrococcus aureus</i> , forward mutation	G	TSM	<i>Tradescantia</i> species, mutation
			G	PLM	Plants (other), mutation

^aEndpoints are grouped within each phylogenetic category as follows: A, aneuploidy; C, chromosomal aberrations; D, DNA damage; F, assays of body fluids; G, gene mutation; H, host-mediated assays; I, inhibition of intercellular communication; M, micronuclei; P, sperm morphology; R, mitotic recombination or gene conversion; S, sister chromatid exchanges and T, cell transformation

* Waters et al. (1987) Appendix 1: Activity profiles for genetic and related tests. IARC Monographs Supplement 6, Lyon, IARC. pp. 687 - 696

Tabla 2. Ensayos de genotoxicidad

Denominación del Ensayo	Código Unión Europea	Nº OCDE
Ensayo citogenético <i>in vitro</i> en mamíferos	B10	473
Ensayo citogenético <i>in vivo</i> en médula ósea de mamífero, análisis cromosómico	B11	475
Ensayo de micronúcleos <i>in vivo</i>	B12	474
Mutación reversa en <i>Escherichia coli</i>	B13	472*
Mutación reversa <i>Salmonella typhimurium</i>	B14	471*
Mutación génica en <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	B15	480
Recombinación mitótica en <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	B16	481
Mutación génica de células de mamífero <i>in vitro</i>	B17	476
Síntesis no programada de DNA en células de mamífero <i>in vitro</i>	B18	482
Ensayo <i>in vitro</i> de intercambio de cromátidas hermanas	B19	479
Ensayo de letales recesivos ligados al sexo en <i>D. melanogaster</i>	B20	477
Ensayo de transformación de células de mamífero <i>in vitro</i>	B21	
Ensayo de letales dominante en roedores	B22	478
Ensayo citogenético de células embrionarias de mamífero <i>in vivo</i>	B23	483
Ensayo de la mancha en el ratón	B24	484
Ensayo de translocación hereditaria en ratón	B25	485
Síntesis no programada de DNA en células hepáticas de mamífero <i>in vivo</i>		486*

* Las líneas directrices 471 y 472 constituyen, desde su aprobación el 21 de julio de 1997, una única línea directriz, la 471, correspondiente al ensayo bacteriano de mutación reversa. La línea directriz 486 fue aprobada como tal, en la misma fecha.

Tabla 3. Ensayos adicionales de mutagénesis del Nivel 1, agrupados según su finalidad genética

Investigación de mutaciones génicas	Mutación directa o inversa en <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
	Mutación directa en células de mamífero cultivadas <i>in vitro</i> .
	Letales recesivos ligados al sexo en <i>Drosophila melanogaster</i> .
	Test de la mancha en ratón.
Investigación de aberraciones cromosómicas	Estudios citogenéticos <i>in vivo</i> en mamíferos. Si no se incluyó en la evaluación inicial, debe considerarse el análisis <i>in vivo</i> de las metafases de células de médula ósea. Además, puede estudiarse la citogenética de las células embrionarias <i>in vivo</i> .
	Estudios citogenéticos <i>in vitro</i> de células de mamíferos, si no se incluyó en la evaluación inicial.
	Letal dominante en roedores.
	Translocación hereditaria en el ratón.
Pruebas indicadoras de efectos en el DNA	Recombinación mitótica en <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
	Síntesis de DNA no programada en células de mamífero <i>in vitro</i> .
	Intercambio de cromátidas hermanas en células de mamífero <i>in vitro</i> .
Pruebas indicadoras de potencial carcinógeno	Transformación de células de mamífero.
Riesgo de efectos hereditarios en mamíferos	Test del locus específico en ratón (mutaciones génicas).
	Translocación hereditaria en ratón (aberraciones cromosómicas).

Tabla 5. Ensayos de mutagenicidad y genotoxicidad incluidos en las Monografías del IARC*

Endpoint ^a	Code	Definition	Endpoint ^a	Code	Definition
NONMAMMALIAN SYSTEMS					
<i>Prokaryotic systems</i>			<i>Lower eukaryotic systems</i>		
D	PRB	Prophage, induction, SOS repair test, DNA strand breaks, cross-links or related damage	D	SSB	<i>Saccharomyces</i> species, DNA strand breaks, cross-links or related damage
D	ECB	<i>Escherichia coli</i> (or <i>E. coli</i> DNA), DNA strand breaks, cross-links or related damage; DNA repair	D	SSD	<i>Saccharomyces</i> species, DNA repair-deficient strains, differential toxicity
D	SAD	<i>Salmonella typhimurium</i> , DNA repair-deficient strains, differential toxicity	D	SZD	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> , DNA repair-deficient strains, differential toxicity
D	ECD	<i>Escherichia coli</i> pol A/W3110-P3478, differential toxicity (spot test)	R	SCG	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , gene conversion
D	ECL	<i>Escherichia coli</i> pol A/W3110-P3478, differential toxicity (liquid suspension test)	R	SCH	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , homozygosis by mitotic recombination or gene conversion
D	ERD	<i>Escherichia coli</i> rec strains, differential toxicity	R	SZG	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> , gene conversion
D	BSD	<i>Bacillus subtilis</i> rec strains, differential toxicity	R	ANG	<i>Aspergillus nidulans</i> , genetic crossing-over
D	BRD	Other DNA repair-deficient bacteria, differential toxicity	G	SCF	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , forward mutation
G	BPF	Bacteriophage, forward mutation	G	SCR	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , reverse mutation
G	BPR	Bacteriophage, reverse mutation	G	SGR	<i>Streptomyces griseoflavus</i> , reverse mutation
G	SAF	<i>Salmonella typhimurium</i> , forward mutation	G	STF	<i>Streptomyces coelicolor</i> , forward mutation
G	SA0	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100, reverse mutation	G	STR	<i>Streptomyces coelicolor</i> , reverse mutation
G	SA2	<i>Salmonella typhimurium</i> TA102, reverse mutation	G	SZF	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> , forward mutation
G	SA3	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1530, reverse mutation	G	SZR	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> , reverse mutation
G	SA4	<i>Salmonella typhimurium</i> TA104, reverse mutation	G	ANF	<i>Aspergillus nidulans</i> , forward mutation
G	SA5	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535, reverse mutation	G	ANR	<i>Aspergillus nidulans</i> , reverse mutation
G	SA7	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1537, reverse mutation	G	NCF	<i>Neurospora crassa</i> , forward mutation
G	SA8	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1538, reverse mutation	G	NCR	<i>Neurospora crassa</i> , reverse mutation
G	SA9	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, reverse mutation	G	PSM	<i>Paramecium</i> species, mutation
G	SAS	<i>Salmonella typhimurium</i> (other miscellaneous strains), reverse mutation	C	PSC	<i>Paramecium</i> species, chromosomal aberrations
G	ECF	<i>Escherichia coli</i> exclusive of strain K12, forward mutation	A	SCN	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , aneuploidy
G	ECK	<i>Escherichia coli</i> K12, forward or reverse mutation	A	ANN	<i>Aspergillus nidulans</i> , aneuploidy
G	ECW	<i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i> , reverse mutation	A	NCN	<i>Neurospora crassa</i> , aneuploidy
G	EC2	<i>Escherichia coli</i> WP2, reverse mutation	<i>Plant systems</i>		
G	ECR	<i>Escherichia coli</i> (other miscellaneous strains), reverse mutation	D	PLU	Plants, unscheduled DNA synthesis
G	BSM	<i>Bacillus subtilis</i> , multigene test	G	ASM	<i>Arabidopsis</i> species, mutation
G	KPF	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , forward mutation	G	HSM	<i>Hordeum</i> species, mutation
G	MAF	<i>Micrococcus aureus</i> , forward mutation	G	TSM	<i>Tradescantia</i> species, mutation
			G	PLM	Plants (other), mutation

^aEndpoints are grouped within each phylogenetic category as follows: A, aneuploidy; C, chromosomal aberrations; D, DNA damage; F, assays of body fluids; G, gene mutation; H, host-mediated assays; I, inhibition of intercellular communication; M, micronuclei; P, sperm morphology; R, mitotic recombination or gene conversion; S, sister chromatid exchange; and T, cell transformation

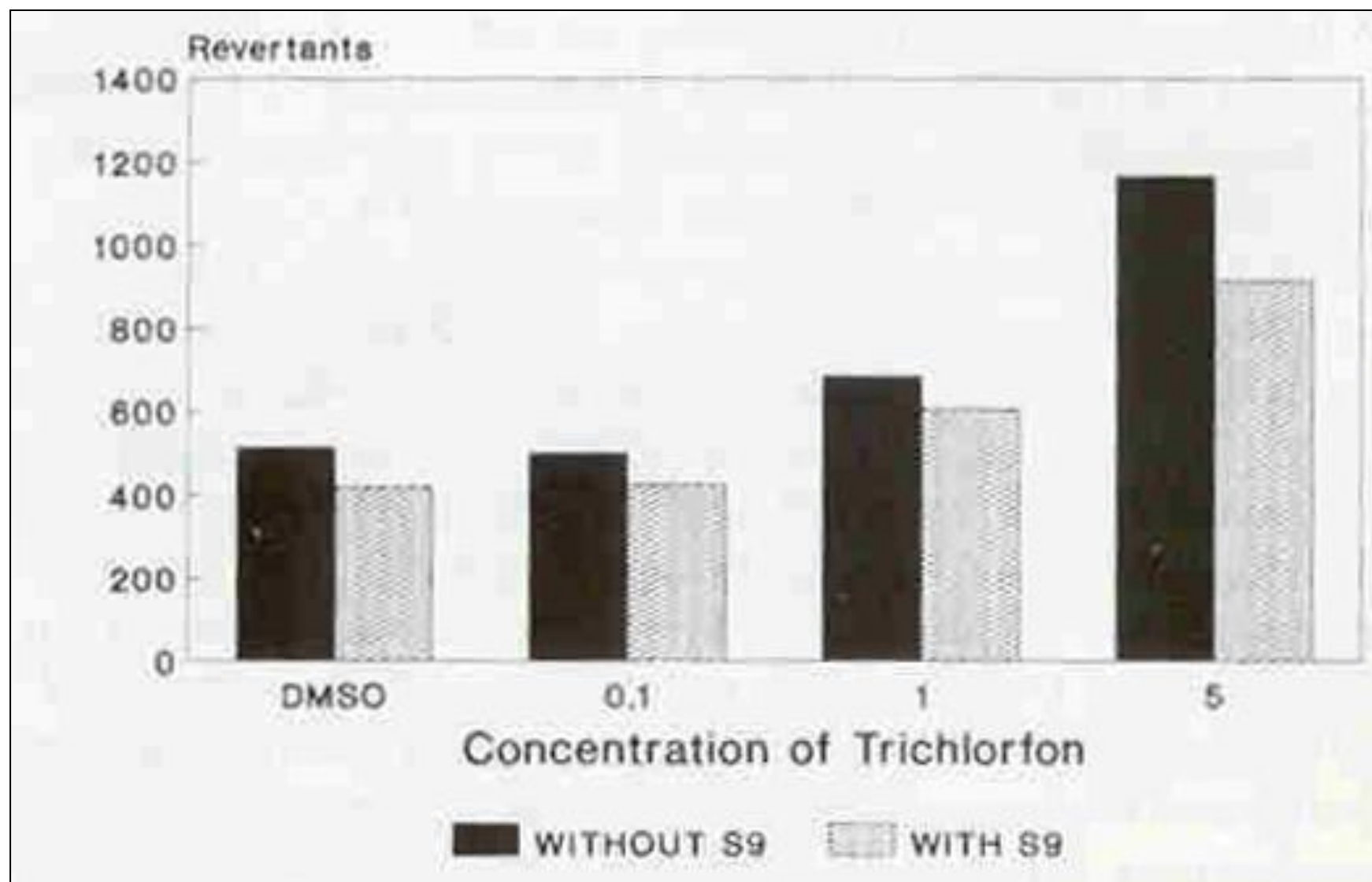


Fig. 1. Ames test with TA104 (Assay I)

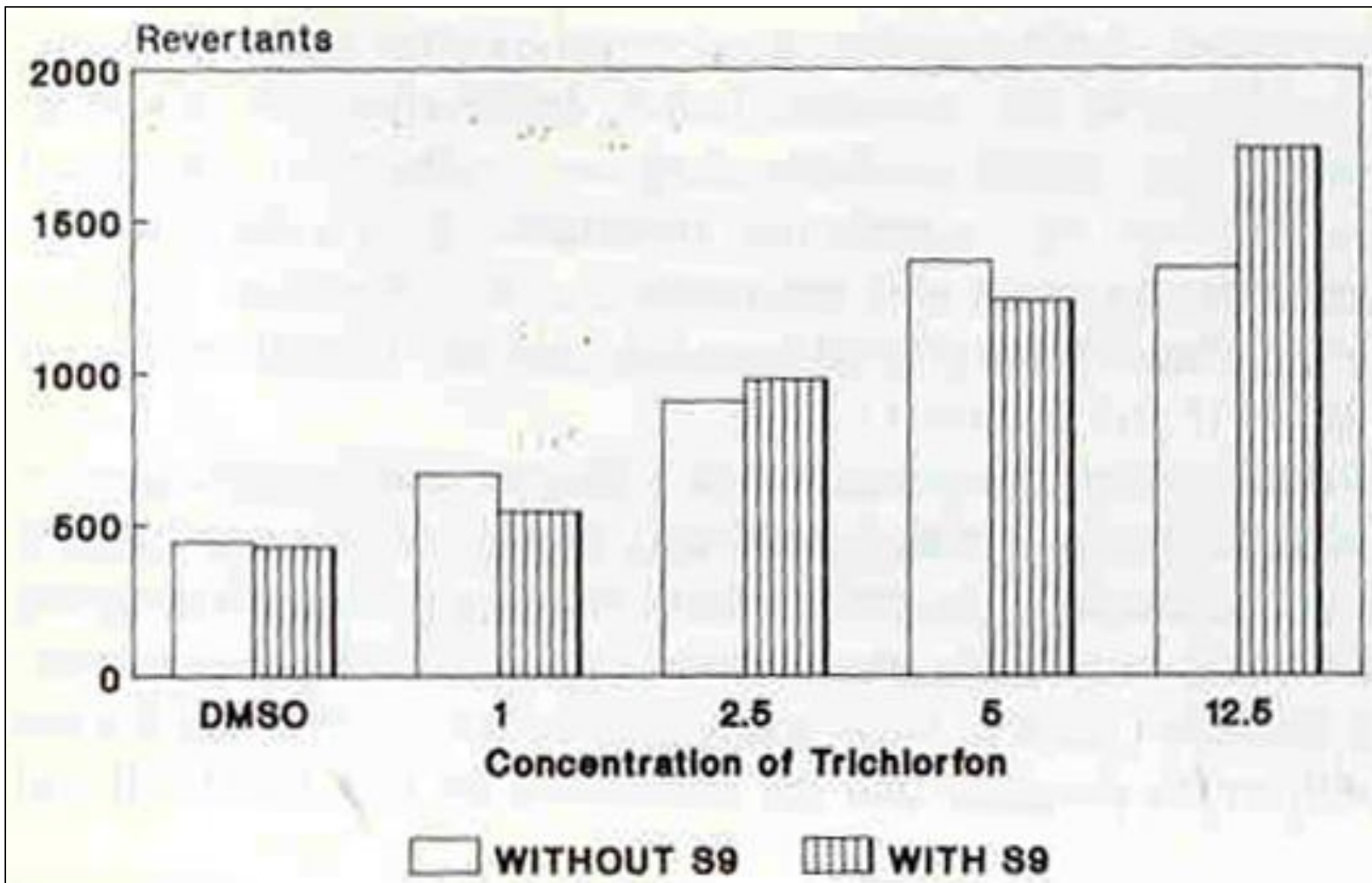


Fig. 2. Ames test with preincubation and TA104 (Assay II)

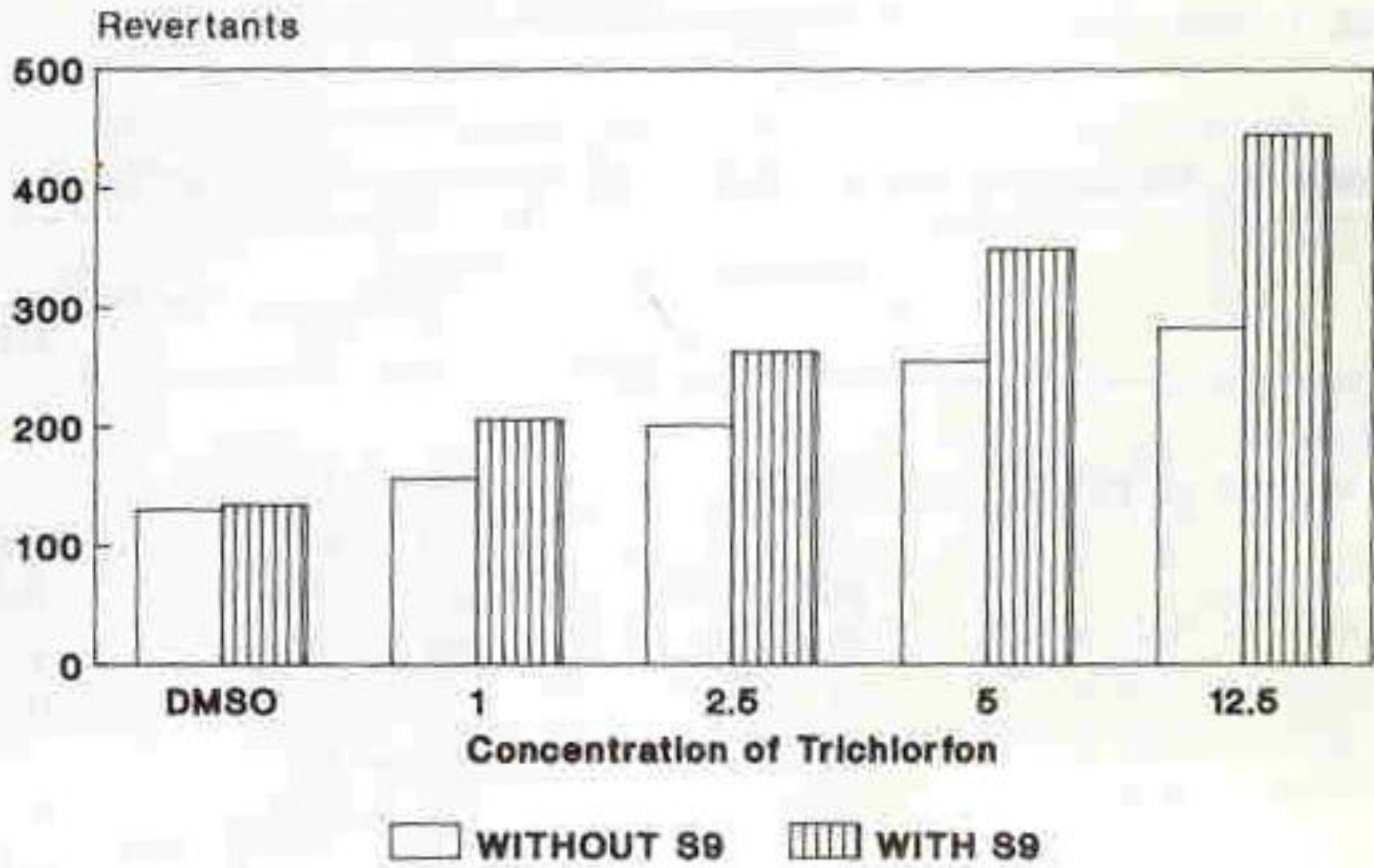


Fig. 3. Ames test with preincubation and TA100 (Assay II)

Table 4.

Mutagenicity of pesticides in the *Salmonella*/microsome assay.

N.º	Pesticides	Use	<i>Salmonella typhimurium</i> , reverse mutation															
			TA 1535		TA 1537		TA 1538		TA 100		TA 97		TA 98		TA 102		TA 104	
				S9		S9		S9		S9		S9		S9		S9		S9
1	Captan	F	+	+	+	+			+	+	+	+			-	-	+	+
2	Folpet	F	+	+	+	+			+	+	+	+			-	-	+	+
3	Captafol	F	-	-	-	-			-	-	-	-			+	+	-	-
4	Dichlofuanide	F	-	-	-	-			-	-	-	-			-	-	-	-
5	Tetrahydrofthalimide	m	-	-	-	-			-	-	-	-			-	-	-	-
6	Tiazolidin-4-carboxylic acid	m	-	-	-	-			-	-	-	-			-	-	-	-
7	Maneb	F	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+/-)	(-)	(-)	(-)
8	Zineb	F	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
9	Triadimefon	F	(-)	(-)	(-)	(-)			(-)	(-)	(-)	(-)			(-)	(-)	(-)	(-)
10	Chlorbromuron	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Chlortoluron	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Difenoxuron	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Diuron	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Fluometuron	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Isoproturon	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Linuron	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Metobromuron	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Metoxuron	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Monolinuron	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	Monuron	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Neburon	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	4-isopropilaniline	m	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	Pirethrum	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			(-)	(-)
24	Alethrin	I	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	(-)	(-)	-	-
25	Bioalethrin	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	-	(-)	(-)			+	+/-
26	S-bioalethrin	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	+/-	+/-	(-)	(-)			-	-
27	Resmethrin	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	-	-	-	+/-		-	-
28	Tetramethrin	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)			(-)	(+/-)
29	cis-Permethrin	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	-	-	-	(-)		-	-
30	trans-Permethrin	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	-	-	-	(-)		-	-
31	Cipermethrin	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)
32	Deltamethrin	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)
33	Fenvalerate	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	-	-	(-)			-	-	-
34	Carbofurane	I	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
35	Trichlorfon	I	-	-					+	-	-	-	-	-			+	+

S9, addition of the supernatant of the post-mitochondrial liver fraction from rat with cofactors; F, fungicide; m, metabolite; H, herbicide; I, insecticide. Results: +, positive; -, negative, in the standard plate incorporation assay; (-) only in the spot test.

Evaluación Genotóxica del insecticida Rotenona

Insecticida	Tratamientos	Rotenona	Total MN	Total BNMN
Rotenona	sin S9	ug/ml		
CAS 83-79-4		0	4	4
Cultivos <i>in vitro</i> de		0,1	7	7
Linfocitos humanos		0,25	12	11 *
Efectos genotóxicos		0,5	16	16**
Micronúcleos		1	21	20**
Sin S9	EMS	1,5 mM	84	68
10 % Giensa	con S9	0	5	5
15 ´		0,1	6	6
		0,25	10	9
		0,5	10	10
		1	12	12
	CP	3 ug/ml	45	42
				* p < 0.05
				** p < 0,01

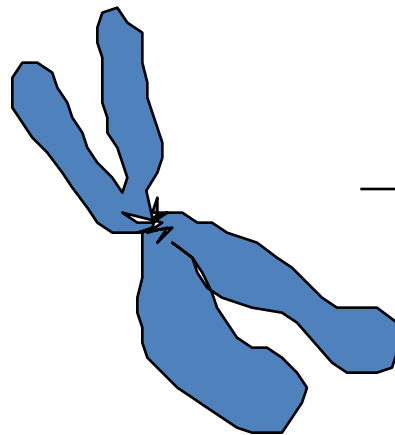
Tipos de Daño Genético

- **Mutación puntual - Transversión A:T -- T:A**



- **Alteración cromosómica:**

- **Estructurales**



Exposición
Replicación DNA

→

- **Numéricas**

Aneuploidía

Poliploidía

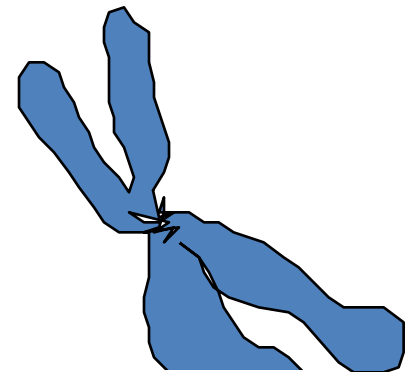


TABLE I. Chromosomal Aberrations in CHO Cells Treated with Fenvalerate

	Fenvalerate μg/ml (-S9)	MI	<u>Aberrations</u>	
			(-gaps) (+gaps)	
(-S9)	0	5.2	3	5
	5	4.9	1	6
	10	4.1	9	15*
	25	3.4*	7	18**
	50	2.8**	8	14*
(+S9)	0	5.0	8	11
	10	4.5	9	15
	25	3.9	11	14
	50	3.9	9	20
	100	3.0	15	24*
	150	2.5**	20*	26*

MI: mitotic index. **P* < 0.05 (chi-square test). ***P* < 0.01 (chi-square test).

TABLE I. Chromosomal Aberrations in CHO Cells Treated with Fenvalerate

	Fenvalerate μg/ml	MI	<u>Aberrations</u>	
			(-gaps)	(+gaps)
(-S9)	0	5.7	5	9
	5	5.1	2	9
	10	4.5	7	13
	25	3.6	5	14
	50	3.2**	10	18
(+S9)	0	5.6	6	9
	10	4.7	9	19
	25	4.3	15*	18
	50	3.7*	13	18
	100	3.2**	19**	24**
	150	3.1**	16*	22*

MI: mitotic index.

* $P < 0.05$ (chi-square test).

** $P < 0.01$ (chi-square test).

TABLE II. Induction of SCEs and Cell Cycle Delay by Fenvalerate in CHO Cells

	Fenvalerate μg/ml	SCE/cell ± SE	PRI
(-S9)	0	5.30 ± 1.17	1.96
	5	5.60 ± 1.21	1.91
	10	6.34 ± 1.27***	1.87
	25	7.00 ± 1.35***	1.80
	50	7.66 ± 1.33***	1.77
(+S9)	0	5.11 ± 0.80	2.05
	10	5.50 ± 1.20	2.03
	25	7.32 ± 1.73***	1.94
	50	7.32 ± 1.54***	1.94
	100	6.46 ± 1.53***	1.95
	150	7.24 ± 2.15***	1.72

PRI was calculated as $(M1 + 2M2 + 2M3)/100$ where M1 is the percent value of cells in the first, M2 in the second, and M3 in the third

** $P < 0.01$ (Student st-test).

*** $P < 0.001$ (Student st-test).

Evaluación genotóxica en cultivos *in vivo* e *in vitro* de células de mamífero

N.º	Pesticides	Use	CHO cells						human lymphocyte cultures						Sperm abnormalities			
			Gen M.		CA		SCE		<i>in vitro</i>			<i>in vivo</i>			SA	F1		
			CA	MN	SCE	CA	MN	CA	MN	SA	F1							
			S9	S9	S9	S9	S9	S9	S9	S9	S9	S9	S9	S9	S9			
1	Captan	F														+	+	
2	Isoproturon	H														+	+	
3	4-Isopropilaniline	m														+		
4	Permethrin	I			+	-			+	-	+	-	-	-	-*	-*		
5	Deltamethrin	I	-	+/-	-	+	+	+										
6	Fenvalerate	I	-	+	-	+	+	+										
7	Triadimefon	F															+	

F, fungicide; H, herbicide; I, insecticide; m, metabolite. CHO, Chinese hamster ovary cells. Gen M, Gene mutation; CA, Chromosome aberrations; SCE, Sister chromatide exchanges; MN, Micronuclei. SA, Sperm abnormalities in Wistar rats; F1, Sperm abnormalities in the F1 descendants. S9, addition of the supernatant of the post-mitochondrial liver fraction from rat with cofactors. Results: +, positive; -, negative, in the standard plate incorporation assay; *, preliminary study.

Evaluación Mutagenicidad

Salmonella typhimurium /microsoma

- Cepas de *Salmonella typhimurium* capaces de detectar mutaciones del tipo:
 - TA98 - desplazamiento pauta de lectura
 - TA100 - sustitución de pares de bases C-G
 - TA104 - sustitución de pares de bases A-T
 - TA102 - sustitución de pares de bases A-T con el sistema de reparación *uvr* intacto
- Con o sin sistema de activación metabólica, usando la fracción microsomal de hígado de ratas pretratadas con inductores enzimáticos

Mutagenic evaluation of trichlorfon using different assay methods with *Salmonella typhimurium*

Carmen Barrueco¹, Angustias Herrera¹ and Eduardo de la Peña



Mutation Research 414 (1998) 1-7



Genotoxicity of the insecticide rotenone in cultured human lymphocytes

Ana Guadaño^{*}, Azucena González-Coloma, Eduardo de la Peña

Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, c/ Serrano 115 dpdo, 28006 Madrid, Spain

Received 28 November 1997; revised 10 February 1998; accepted 10 February 1998

En: de la Peña E, Burgaste I, Guadaño A (1999) Evaluación Mutagénica y Genotóxica. Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica, Sociedad Española de Mutagenésis Ambiental, MRCA198. Madrid. 249-260

MULTICOLOR FISH USING TANDEM PROBES TO DETECT CHROMOSOME ALTERATIONS IN HUMANS CELLS AND POPULATIONS EXPOSED TO GENOTOXIC AGENTS

DAVID A. EASTMOND¹, DOPPALAPUDI S. RUPA¹, MAIK J. SCHULER¹, MICHELLE N. MURG¹ AND EDUARDO DE LA PEÑA²

¹Environmental Toxicology Graduate Program, University of California Riverside, U.S.A.
²Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Ciencias Medioambientales.

Environmental and Molecular Mutagenesis 20:218-222 (1992)

Effect of Permethrin on the Induction of Sister Chromatid Exchanges and Micronuclei in Cultured Human Lymphocytes

Angustias Herrera, Carmen Barrueco, Covadonga Caballo, and Eduardo de la Peña
Centro Nacional de Sanidad Ambiental, Instituto de Salud Carlos III (A.H., C.B., C.C.) and Centro de Ciencias Medioambientales, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (E.d.l.P.), Madrid, Spain

Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis 14:31-38 (1994)

Induction of Structural Chromosome Aberrations in Human Lymphocyte Cultures and CHO Cells by Permethrin

Carmen Barrueco, Angustias Herrera, Covadonga Caballo, and Eduardo de la Peña

Toxicology in Vitro 22 (2008) 1228-1233

Contents lists available at ScienceDirect

Toxicology in Vitro

journal homepage: www.elsevier.com/locate/toxinvit

In vitro assessment of the cytotoxic and mutagenic potential of perfluorooctanoic acid

P. Fernández Freire^a, J.M. Pérez Martín^a, O. Herrero^{a,b}, A. Peropadre^a, E. de la Peña^b, M.J. Hazen^{a,*}

^aDepartamento de Biología, Edificio de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, C/Darwin, 2, Cantoblanco, 28049 Madrid, Spain
^bGrupo de Mutagenésis Ambiental, Centro de Ciencias Medioambientales CSIC, 28006 Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:
Received 7 February 2008
Accepted 9 April 2008
Available online 15 April 2008

Keywords:
Perfluorooctanoic acid
Cytotoxicity
Mutagenicity
In vitro bioassays

ABSTRACT

Perfluorooctanoic acid (PFOA) is a perfluorinated compound ubiquitously detected in the environment, including wildlife and humans. Despite the available information, research on the cytotoxicity of PFOA in non-tumoral mammalian cells is relatively limited. In this work, two *in vitro* toxicity systems were employed to provide further insight into the cytotoxic and mutagenic potential of PFOA. The cytotoxicity of the chemical towards Vero cells was assessed using biochemical and morphological parameters, while mutagenicity was evaluated according to Ames test. High doses of PFOA cause oxidative stress in Vero cells, that was closely linked to cell cycle arrest at the G1 phase and induction of apoptosis. Our results corroborate previous findings in human tumoral cells and suggest that the mode of action of this perfluorinated compound is not a peculiarity among mammalian cell types. On the other hand, the compound was not mutagenic in the Ames test, using four strains of *Salmonella typhimurium* in the presence or absence of rat S9 metabolic activation system.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Cell Biology in Environmental Toxicology
M.F. Cajaville, editor, pp. 289-299
I.S.B.N.: 84-7385-666-7
Copyright © 1995 University of the Basque Country Press Service, Bilbao
All rights of reproduction in any form reserved

Chapter 12

Genotoxic and cytotoxic effects of pesticides

E. de la Peña, C. Barrueco, A. Herrera and C. Caballo
CSIC, Centro de Ciencias Medioambientales, Mutagenésis Ambiental/Genotoxicología,
C/ Serrano 115, apdo, 28006 Madrid, España

MULTICOLOR FISH USING TANDEM PROBES TO DETECT CHROMOSOME ALTERATIONS IN HUMANS CELLS AND POPULATIONS EXPOSED TO GENOTOXIC AGENTS

DAVID A. EASTMOND¹, DOPPAPUDI S. RUPA¹, MAIK J. SCHULER¹, MICHELLE N. MURG¹ AND EDUARDO DE LA PEÑA²

¹Environmental Toxicology Graduate Program, University of California Riverside, U.S.A.
²Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Centro de Ciencias Medioambientales.

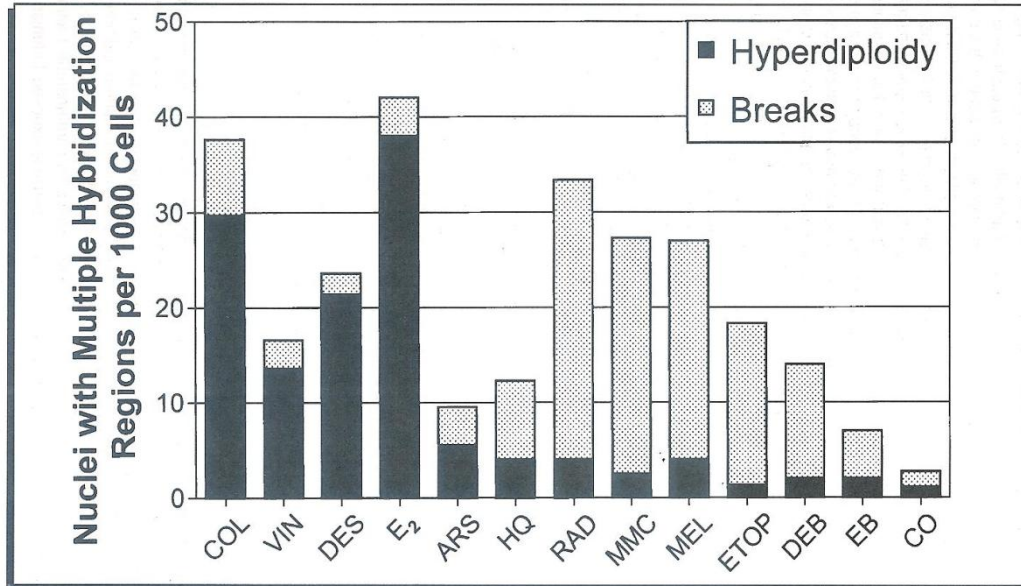
Table 1. Frequency of cells exhibiting breakage within the 1cen-1q12 region of chromosome 1 in cultured interphase and metaphase human lymphocytes treated with ionizing radiation (300 cGy) *in vitro*.

	Untreated		Irradiated	
	Interphase	Metaphase	Interphase	Metaphase
"Interphase" Aberrations				
Definite ^b	4	0	71	69
Possible ^b	-	0	-	31
Total Cells	4000	4001	4000	4046

^aTable adapted from Rupa et al. (1995).

^bThese are aberrations observed during metaphase which were judged to be definitely or possibly detectable during interphase analysis. (See text for additional description.)

Figure 2. Classification of nuclei containing 3 or more hybridization regions following tandem labeling for the 1cen-1q12 region of chromosome 1 in human lymphocytes. The frequencies presented represent the mean of two separate experiments with at least 1000 cells per experiment. Control frequencies for the different experiments were pooled with the combined results representing over 25,000 untreated cells.



234

D. A. EASTMOND, D. S. RUPA, M. J. SCHULER, M. N. MURG, E. DE LA PEÑA

Table 2. Population studies using the tandem label assay to detect chromosomal alterations in humans exposed to genotoxic agents.

Study Group	N ^a	C ₀	Cell Type	Hyperploidy ^b	Breakage ^c	Reference
Indian controls	19	1	Lymphocyte	2 (1-3)	2 (1-3)	Rupa et al. 1995
Indian pesticide applicators	26	1	Lymphocyte	3 (2-4)	5 (4-8)	
Indian controls	18	1	Sperm	2 (1-3)	0 (0-1)	Rupa et al. 1997
Indian pesticide applicators	21	1	Sperm	4 (3-8)	4 (1-5)	
Indian controls	23	1	Oral mucosal	0 (0-0)	0 (0-0)	Rupa et al. 1997
Indian betel nut chewers	19	1	Oral mucosal	0 (0-1)	2 (1-3)	
US controls	13	1	Lymphocyte	1.5 ^d	4 ^e	Coyfoll-Roes et al. 1997
US smokers	22	1	Lymphocyte	1.5 ^d	12 ^e	
US lung cancer patients	22	1	Lymphocyte	1.5 ^d	12 ^e	
Estonian controls	8	1	PMN ^f	1 (0-2)	8 (4-13)	Canero et al. 1998
		1	Go lymphocyte	0 (0-2)	5 (3-9)	Marcon et al. 1999
		1	Lymphocyte	0 (0-0)	2 (1-4)	
		9	Lymphocyte	0 (0-0)	6 (4-8)	
Estonian coking workers	5	1	PMN ^f	2 (0-2)	6 (4-11)	
		1	Go lymphocyte	0 (0-3)	4 (2-6)	
		1	Lymphocyte	0 (0-1)	4 (2-4)	
		9	Lymphocyte	0 (0-0)	7 (6-7)	
Estonian benzene workers	12	1	PMN ^f	2 (1-4)	11 (10-14)	
		1	Go lymphocyte	1 (0-2)	6 (4-11)	
		1	Lymphocyte	0 (0-1)	6 (4-7)	
		9	Lymphocyte	0 (0-1)	10 (8-13)	
Hyperthyroid patients						
Before ¹²⁵ I-treatment	16	1	Oral mucosal	0.3 (0-0.5)	2.5 (1.8-3.3)	Ramirez et al. 1999
After ¹²⁵ I-treatment	16	1	Oral mucosal	0.3 (0-0.8)	3.0 (1.3-5.5)	
Thyroid cancer patients						
Before ¹²⁵ I-treatment	15	1	Oral mucosal	0.0 (0-0.5)	2.5 (1-4.4)	
After ¹²⁵ I-treatment	15	1	Oral mucosal	0.5 (0-0.5)	2.5 (1.5-3.4)	

^aNumber of individuals sampled, ^bMedian (interquartile range), ^cPooled mean reported for the three groups, ^dMean ± SEM, ^ePolymorphonuclear leukocytes

200

D. A. EASTMOND, D. S. RUPA, M. J. SCHULER, M. N. MURG, E. DE LA PEÑA



MNs con Sondas centroméricas de ADN

Tandem-Labeling

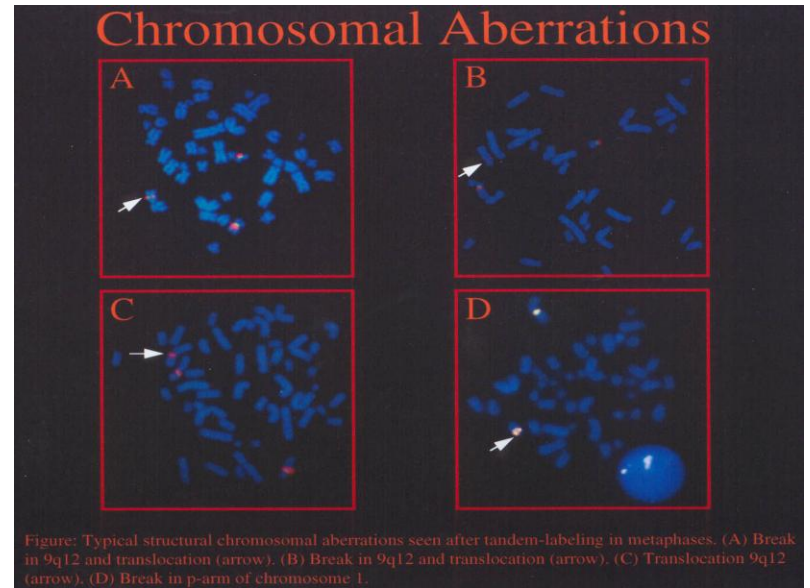
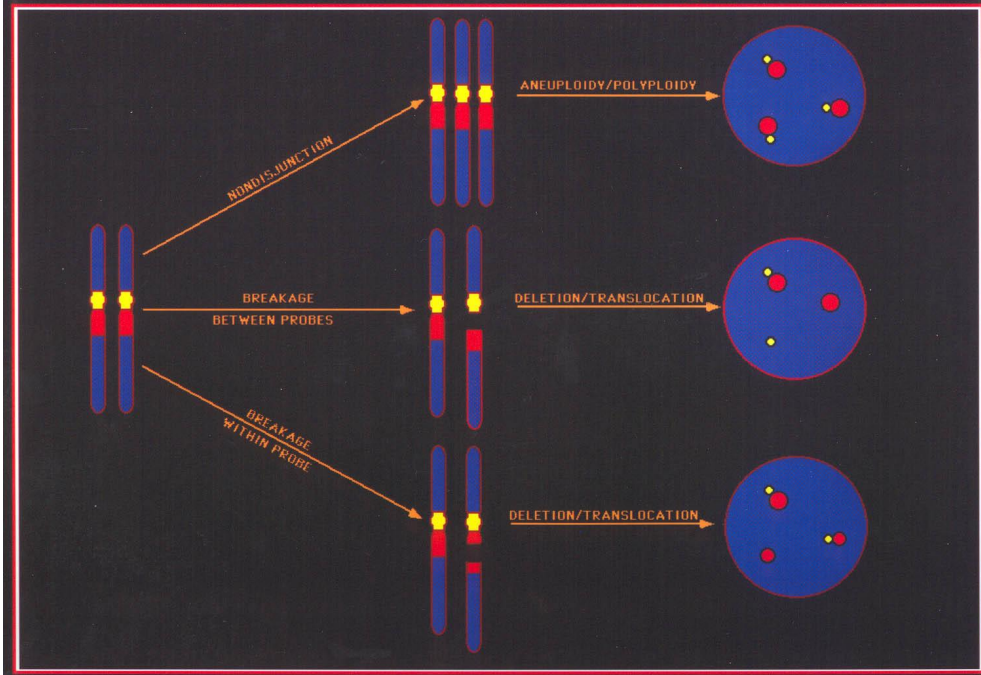


Figure: Typical structural chromosomal aberrations seen after tandem-labeling in metaphases. (A) Break in 9q12 and translocation (arrow). (B) Break in 9q12 and translocation (arrow). (C) Translocation 9q12 (arrow). (D) Break in p-arm of chromosome 1.

Tandem-Labeling Pictures

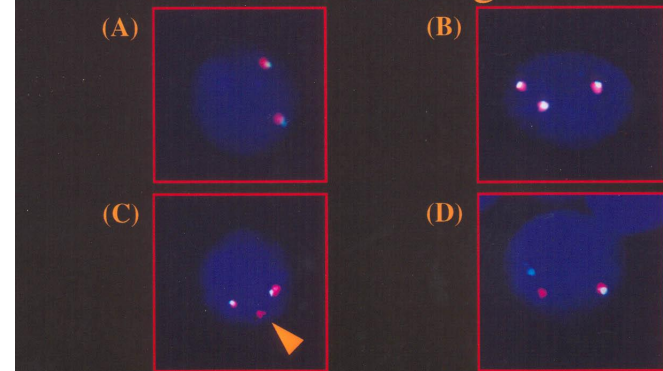
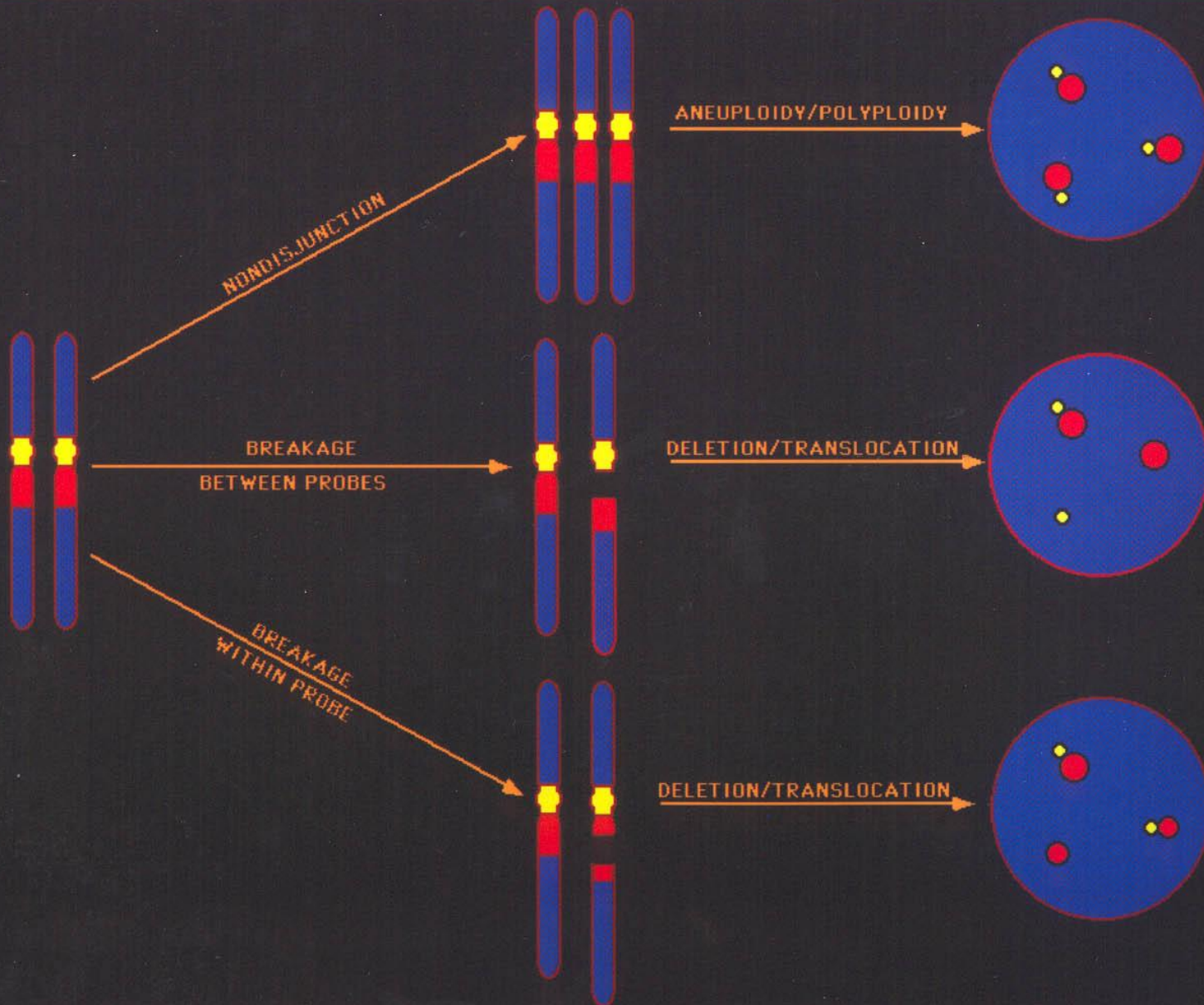


Figure 2: Multicolor fluorescence *in situ* hybridization with two adjacent centromeric DNA probes for chromosome 1 in human lymphocytes. (A) Normal interphase cell following hybridization with a fluorescein-labeled α -satellite probe and an adjacent Cy3-labeled classical satellite probe. (B) Interphase lymphocyte exhibiting trisomy of chromosome 1. (C) Interphase lymphocyte containing 3 hybridization regions, two of which contain both the α and classical satellite probes and one containing only the classical satellite probe (arrowhead), indicating that a break in the 1q12 region has occurred. (D) Interphase lymphocyte containing 3 hybridization regions, one of which contains both the α and classical satellite probes, one containing only the classical satellite probe and one containing only the α -satellite probe, indicating that a break between the two probes has occurred.

Evaluación con FISH

Tandem-Labeling



Evaluación con Hibridación in situ con Fluorescencia multicolor FISH

Tandem-Labeling Pictures

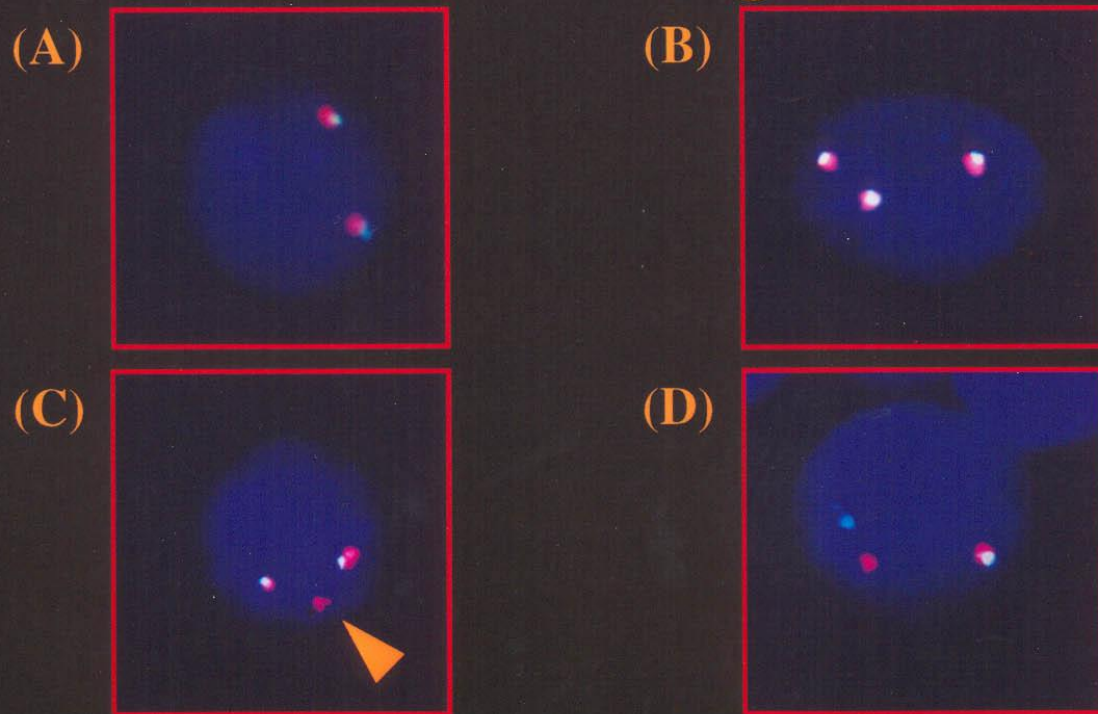
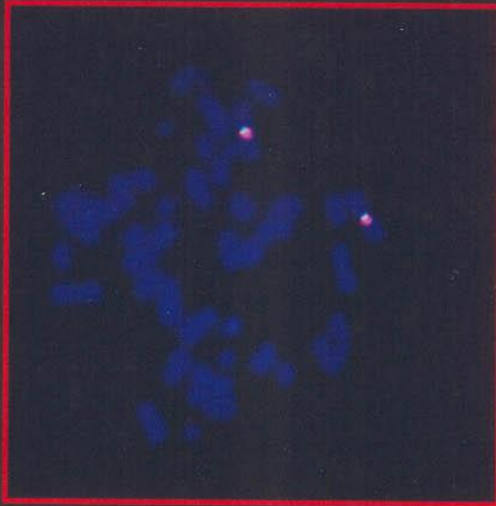


Figure 2: Multicolor fluorescence *in situ* hybridization with two adjacent centromeric DNA probes for chromosome 1 in human lymphocytes. (A) Normal interphase cell following hybridization with a fluorescein-labeled α -satellite probe and an adjacent Cy3-labeled classical satellite probe. (B) Interphase lymphocyte exhibiting trisomy of chromosome 1. (C) Interphase lymphocyte containing 3 hybridization regions, two of which contain both the α and classical satellite probes and one containing only the classical satellite probe (arrowhead), indicating that a break in the 1q12 region has occurred. (D) Interphase lymphocyte containing 3 hybridization regions, one of which contains both the α and classical satellite probes, one containing only the classical satellite probe and one containing only the α -satellite probe, indicating that a break between the two probes has occurred.

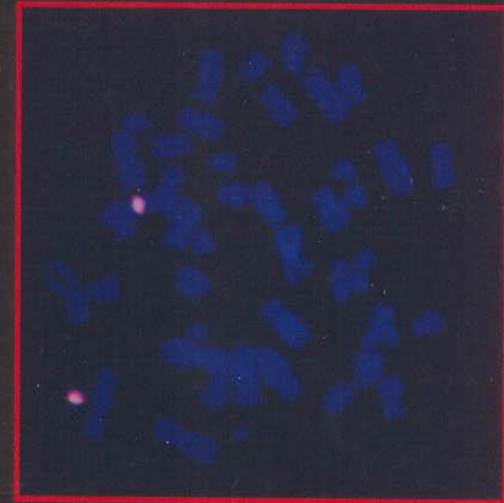
Tandem-Labeling Probes



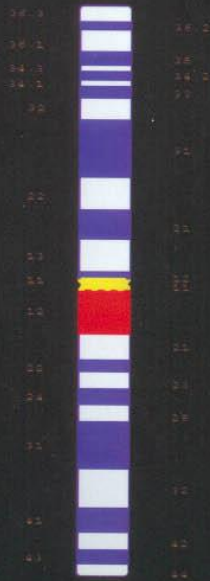
Chromosome 1



Chromosome 9



Chromosome 16



MULTICOLOR FISH USING TANDEM PROBES TO DETECT CHROMOSOME ALTERATIONS IN HUMANS CELLS AND POPULATIONS EXPOSED TO GENOTOXIC AGENTS

DAVID A. EASTMOND¹, DOPPAPUDI S. RUPA¹, MAIK J. SCHULER¹, MICHELLE N. MURG¹ AND EDUARDO DE LA PEÑA²

¹Environmental Toxicology Graduate Program, University of California Riverside, U.S.A.
²Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Centro de Ciencias Medioambientales.

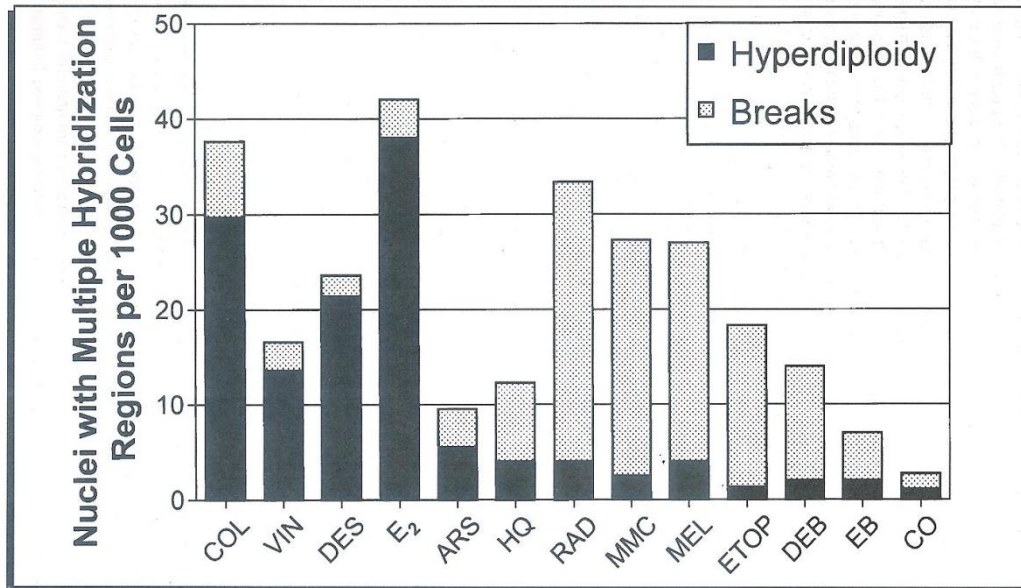
Table 1. Frequency of cells exhibiting breakage within the 1cen-1q12 region of chromosome 1 in cultured interphase and metaphase human lymphocytes treated with ionizing radiation (300 cGy) *in vitro*.

	Untreated		Irradiated	
	Interphase	Metaphase	Interphase	Metaphase
"Interphase" Aberrations				
Definite ^b	4	0	71	69
Possible ^b	-	0	-	31
Total Cells	4000	4001	4000	4046

^aTable adapted from Rupa et al. (1995).

^bThese are aberrations observed during metaphase which were judged to be definitely or possibly detectable during interphase analysis. (See text for additional description.)

Figure 2. Classification of nuclei containing 3 or more hybridization regions following tandem labeling for the 1cen-1q12 region of chromosome 1 in human lymphocytes. The frequencies presented represent the mean of two separate experiments with at least 1000 cells per experiment. Control frequencies for the different experiments were pooled with the combined results representing over 25,000 untreated cells.



234

D. A. EASTMOND, D. S. RUPA, M. J. SCHULER, M. N. MURG, E. DE LA PEÑA

Table 2. Population studies using the tandem label assay to detect chromosomal alterations in humans exposed to genotoxic agents.

Study Group	N ^a	C ₀	Cell Type	Hyperploidy ^b	Breakage ^c	Reference
Indian controls	19	1	Lymphocyte	2 (1-3)	2 (1-3)	Rupa et al. 1995
Indian pesticide applicators	26	1	Lymphocyte	3 (2-4)	5 (4-8)	
Indian controls	18	1	Sperm	2 (1-3)	0 (0-1)	Rupa et al. 1997
Indian pesticide applicators	21	1	Sperm	4 (3-8)	4 (1-5)	
Indian controls	23	1	Oral mucosal	0 (0-0)	0 (0-0)	Rupa et al. 1997
Indian betel nut chewers	19	1	Oral mucosal	0 (0-1)	2 (1-3)	
US controls	13	1	Lymphocyte	1.5 ^d	4 ^e	Coyfoll-Roes et al. 1997
US smokers	22	1	Lymphocyte	1.5 ^d	12 ^e	
US lung cancer patients	22	1	Lymphocyte	1.5 ^d	12 ^e	
Estonian controls	8	1	PMN ^f	1 (0-2)	8 (4-13)	Canero et al. 1998
		1	Go lymphocyte	0 (0-2)	5 (3-9)	Marcon et al. 1999
		1	Lymphocyte	0 (0-0)	2 (1-4)	
		9	Lymphocyte	0 (0-0)	6 (4-8)	
Estonian coking workers	5	1	PMN ^f	2 (0-2)	6 (4-11)	
		1	Go lymphocyte	0 (0-3)	4 (2-6)	
		1	Lymphocyte	0 (0-1)	4 (2-4)	
		9	Lymphocyte	0 (0-0)	7 (6-7)	
Estonian benzene workers	12	1	PMN ^f	2 (1-4)	11 (10-14)	
		1	Go lymphocyte	1 (0-2)	6 (4-11)	
		1	Lymphocyte	0 (0-1)	6 (4-7)	
		9	Lymphocyte	0 (0-1)	10 (8-13)	
Hyperthyroid patients						
Before ¹²⁵ I-treatment	16	1	Oral mucosal	0.3 (0-0.5)	2.5 (1.8-3.3)	Ramirez et al. 1999
after ¹²⁵ I-treatment	16	1	Oral mucosal	0.3 (0-0.8)	3.0 (1.3-5.5)	
Thyroid cancer patients						
before ¹²⁵ I-treatment	15	1	Oral mucosal	0.0 (0-0.5)	2.5 (1-4.4)	
after ¹²⁵ I-treatment	15	1	Oral mucosal	0.5 (0-0.5)	2.5 (1.5-3.4)	

^aNumber of individuals sampled, ^bMedian (interquartile range), ^cPooled mean reported for the three groups, ^dMean ± SEM, ^ePolymorphonuclear leukocytes

250

D. A. EASTMOND, D. S. RUPA, M. J. SCHULER, M. N. MURG, E. DE LA PEÑA

EVALUACIÓN MUTAGÉNICA Y GENOTÓXICA



EDUARDO DE LA PEÑA DE TORRES, CSIC
ISABEL BURGUETE TORAL, UNIVERSIDAD DE MURCIA
ANA GUADAÑO LARRAURI, CSIC

*Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica.
Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental.
MURCIA '98.*

X Aniversario de la Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental



SEMA

Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental

[Volver al Inicio](#)

- [Inicio](#)
- [Acerca de](#)
- [Reuniones SEMA](#)
- [Baúl de Recuerdos](#)
- [Noticias](#)
- [Enlaces](#)
- [Contacto](#)



León 2015

XXI CONGRESO ESPAÑOL
DE TOXICOLOGÍA Y V
IBEROAMERICANO



• ACERCA DE •

La **Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental (SEMA)** tiene como objetivo contribuir al desarrollo y la difusión de las diferentes ramas de la mutagénesis ambiental mediante la organización de Reuniones Científicas, el contacto entre sus miembros y las relaciones con sociedades afines nacionales e internacionales, formando parte de la *European Environmental Mutagen Society (EEMS)*.

[Más información »](#)

• REUNIONES SEMA •



• NOTICIAS •

- XXI Congreso Español de Toxicología y V Iberoamericano
- 44th Annual Meeting of the EEMS
- 2nd 'International Congress on Safety of Engineered Nanoparticles and Nanotechnologies' (SENN2015)
- 7th International Congress of Asian Society of

Copyright © 2015 SEMA • Web creada y gestionada por diffundit®



SEMA

Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental

- [Inicio](#)
- [Acerca de](#)
- [Reuniones SEMA](#)
- [Baúl de Recuerdos](#)
- [Noticias](#)
- [Enlaces](#)
- [Contacto](#)

ACERCA DE

La **SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGÉNESIS AMBIENTAL (SEMA)** tiene como objetivo contribuir al desarrollo y la difusión de las diferentes ramas de la mutagénesis ambiental mediante la organización de Reuniones Científicas, el contacto entre sus miembros y las relaciones con sociedades afines nacionales e internacionales, formando parte de la *European Environmental Mutagen Society (EEMS)*.

- **DOCUMENTO:** *Programas y Carteles de las Reuniones Científicas de los Grupos que realizan Evaluación Mutagénica y de otros Congresos organizados por la SEMA o en los que ha participado desde 1984 hasta 2014 (PDF).* **Eduardo de la Peña de Torres, Tesorero de la SEMA.**
- **DOCUMENTO:** *Actividades de la Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental* **Eduardo de la Peña de Torres, Tesorero de la SEMA.**

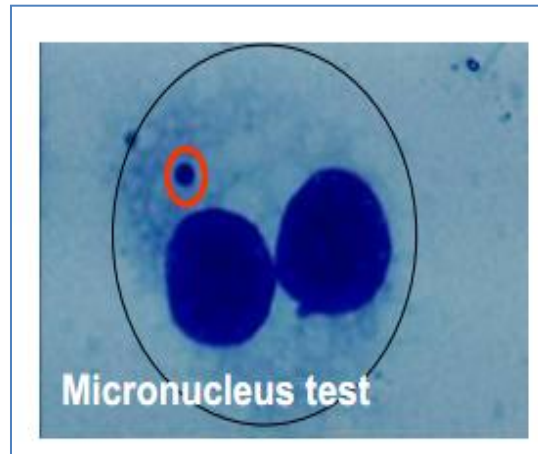
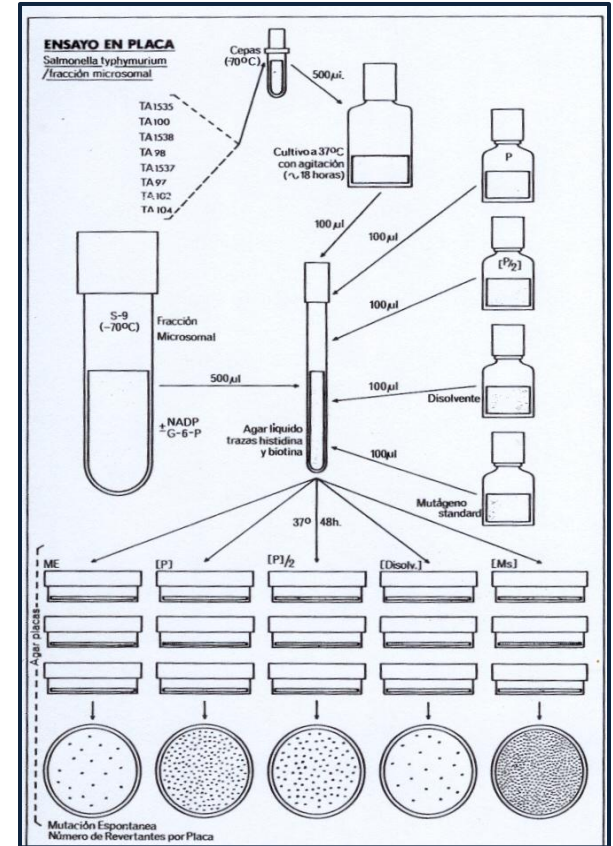
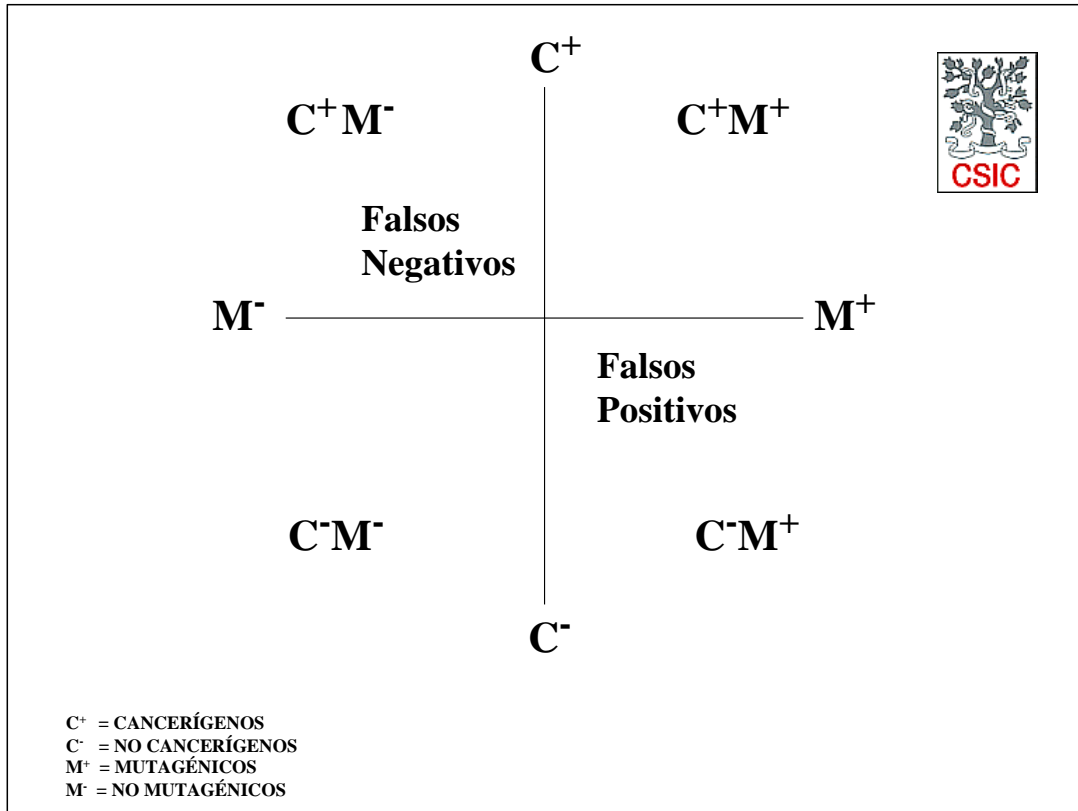
Domicilio Social:

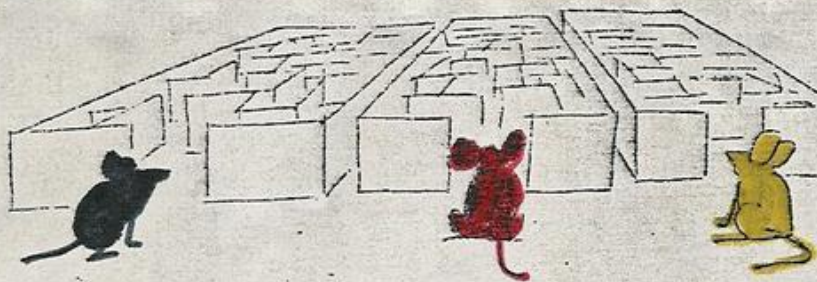
Departamento de Genética y Microbiología
Universidad Autónoma de Barcelona
Campus de Bellaterra s/n
Cerdanyola del Vallès 08193 (Barcelona)

NOTICIAS

- XXI Congreso Español de Toxicología y V Iberoamericano
- 44th Annual Meeting of the EEMS
- 2nd 'International Congress on Safety of Engineered Nanoparticles and Nanotechnologies' (SENN2015)
- 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (ASIATOX2015)
- 51st Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2015)
- Zing conference on Genomic Integrity
- DNA Replication and Recombination / Genomic Instability and DNA Repair
- Mammalian DNA Repair Gordon Research Conference
- EACR Conference on Radiation Biology and Cancer: From Molecular Responses to the Clinic
- 8th Conference on Metal Toxicity & Carcinogenesis

Mutagenicidad / Carcinogenicidad





E. de la Peña

- Mutagenicidad
- Carcinogenicidad
- Epidemiología

E. de la Peña '81

es mejor ***conocer*** que un
efecto tóxico **no existe**
que ***ignorar*** que un efecto
tóxico **no existe**