

GUIA SOBRE LAS NECESIDADES MINIMAS PARA UN LABORATORIO DE ECOTOXICOLOGIA

Fausto Antonio de Azevedo
Sergio Colacioppo



Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud
Organización Panamericana de la Salud
Organización Mundial de la Salud

P R E F A C I O

La utilización de sustancias químicas en virtualmente todos los aspectos de la vida se ha intensificado en los últimos decenios. El comercio internacional de sustancias químicas a granel, compuestos químicos y productos de consumo se ha acrecentado proporcionalmente, todo esto da un carácter imperativo a la necesidad de un análisis y una evaluación constantes de los procedimientos para determinar su toxicidad.

La inquietud respecto de los posibles riesgos para la salud que podrían derivarse de la exposición a las sustancias químicas se ha intensificado en todo el mundo, especialmente en las naciones industrializadas.

La preocupación actual respecto a los efectos de las sustancias químicas sobre la salud es más intensa en unos países que en otros, con la consiguiente diferencia en la reacción política, que se refleja en los reglamentos nacionales de seguridad en el uso de sustancias químicas.

Sin embargo, no es prematuro que los hombres de ciencia y las autoridades traten de comprender las similitudes y diferencias en las evaluaciones del riesgo realizadas en distintos países. Los objetivos básicos son idénticos en todas partes, a saber, reducir al mínimo los efectos nocivos y aumentar al máximo la seguridad, sin impedir por ello el uso provechoso de las sustancias químicas. Análogamente, los principios científicos básicos tienen aceptación universal, por lo cual no existe razón que impida una gradual armonización de los métodos y procedimientos de prueba y evaluación toxicológicas.

Es importante el estudio de poblaciones expuestas a agentes químicos en asentamientos industriales, en el ambiente doméstico y en la población en general con la necesaria colaboración internacional en estos estudios.

El aumento creciente en el volumen y variedad de productos químicos producidos y comercializados en el mundo unido a una preocupación creciente relacionada con los efectos nocivos de los agentes químicos sobre el ambiente y la salud humana han promovido el desarrollo de legislación a nivel nacional e internacional sobre

pruebas de toxicidad y evaluación de los efectos nocivos.

Se detecta también la necesidad de estudiar los efectos nocivos producidos por esos agentes químicos, sobre los seres vivos ya que afectan la salud humana en forma indirecta a través de la cadena alimentaria. Además, los efectos nocivos detectados en la flora y fauna, son una señal de alarma temprana de posibles efectos sobre la salud humana.

De todo lo expuesto se evidencia la necesidad de que los países dispongan de laboratorios destinados a estudios de toxicología ambiental o de ecotoxicología.

Esta publicación está destinada, en especial, a aquellos profesionales que se enfrentan con la toma de decisiones relacionadas con la contaminación ambiental producida por agentes químicos, la evaluación de los efectos producidos y medidas de control de esos agentes químicos a ser adoptadas, siempre teniendo en cuenta la información que pueden proporcionar los estudios de toxicología ambiental.

Dra. Nilda A.G.G. de Fernicola
Consultora en Toxicología
ECO/OPS/OMS

NOTA DE LOS AUTORES

La presente guía fue elaborada teniendo en cuenta la discusión de las condiciones mínimas y básicas para que se pueda instalar un laboratorio de Análisis Ecotoxicológicos, que venga a colaborar paulatina, continua y seguramente con los servicios de Salud Ambiental en el sentido del mantenimiento y de la promoción de la salud. Inicialmente, se imagina un laboratorio capaz de auxiliar en el reconocimiento y en la evaluación de los riesgos ambientales, principalmente los determinados por los agentes químicos y con ésto, capaz de ayudar en el establecimiento de los programas de Salud Pública y Ambiental para el control de tales agentes. En la medida en que hubiese necesidad de la implantación, la ampliación y la sofisticación de estos programas, el laboratorio deberá ser consecuentemente ampliado y equipado a partir del núcleo mínimo inicial.

CONTENIDO

1. Conceptos de Toxicología y de Ecotoxicología.....	5
2. Contaminación del ambiente por agentes físicos y químicos.....	6
3. Principales agentes químicos contaminantes del aire, de las aguas y de los suelos	7
3.1 Contaminantes del aire.....	7
3.2 Contaminantes de las aguas y de los suelos.....	12
4. Efectos nocivos de los principales contaminantes químicos del aire, de las aguas y de los suelos sobre la salud del hombre y del ambiente.....	15
5. Relaciones dosis-efecto y dosis-respuesta y vigilancia toxicológica de la exposición humana a contaminantes químicos del ambiente.....	18
6. Importancia del Laboratorio de Ecotoxicología para la Salud Pública y para la Salud Ambiental.....	26
7. Instalación de un Laboratorio para estudios de ecotoxicología.....	28
7.1 Local y condiciones necesarias.....	28
7.2 Instrumental necesario.....	29
7.3 Consideraciones sobre la preparación de los reactivos.....	30
7.4 Eliminación de residuos del laboratorio.....	31
7.5 Medidas de protección en el laboratorio.....	32
7.6 Control de calidad de los análisis del laboratorio.....	33
7.7 Obtención de muestras de material biológico.....	35
7.8 Conservación de las muestras.....	36
8. Conclusiones y recomendaciones.....	37
9. Bibliografía.....	37

1. Conceptos de toxicología y de ecotoxicología

Para el buen desarrollo del asunto para el que se propone esta obra, se hace necesario considerar algunos conceptos inicialmente.

Se entiende por Toxicología la ciencia que tiene por objeto de preocupación el estudio de las acciones y de los efectos nocivos de agentes químicos y de agentes físicos sobre sistemas biológicos, es decir, sobre organismos vivos. Con este estudio la toxicología pretende comprender los aspectos cualitativos y cuantitativos de la relación que se establece entre el agente tóxico (o xenobiótico) y el organismo vivo (huésped o paciente); procura aclarar el mecanismo de la acción tóxica e intenta estimar la probabilidad de ocurrencia de las acciones y los efectos nocivos del xenobiótico sobre el organismo en una situación de exposición. La búsqueda de este conocimiento tiene por finalidad generar información para procedimientos a nivel preventivo en salud (establecer límites máximos aceptables para la exposición dentro de criterios de seguridad) y a nivel curativo (por ejemplo, producción de antidotos).

La ecotoxicología es la rama del conocimiento humano basada en la toxicología y en la ecología, que se ocupa del estudio de las acciones y de los efectos nocivos de agentes físicos y químicos presentes en el medio ambiente, sobre los constituyentes vivos de los ecosistemas o sea, sobre el ser humano, los animales, los vegetales, los microorganismos. Cuando los agentes químicos y los agentes físicos están presentes en el medio ambiente bajo una forma peligrosa o agresiva, se consideran contaminantes y pueden ser de origen natural o de origen antrópico. La ecotoxicología incluye el estudio de las fuentes de emisión de los contaminantes (su naturaleza, características espaciales, temporales, etc.) del seguimiento y de las transformaciones ambientales de los productos emitidos, de la interacción entre ellos y los seres

vivos y, por lo tanto, de su impacto ambiental. Así, esta ciencia se encuentra siempre muy involucrada con la evaluación global del binomio riesgo-beneficio (sobre todo los beneficios dentro de la óptica económica) correlacionada con la implantación de diferentes procesos tecnológicos. Siempre es importante destacar que la manifestación de un efecto tóxico sobre un componente vivo del ecosistema, en función de la presencia y acción de un contaminante químico o físico, puede ocurrir en un sitio muy distante a aquel donde se dio la introducción del agente, así como, por otro lado, la manifestación tóxica mencionada puede también tardar bastante para evidenciarse.

2. Contaminación del ambiente por agentes físicos y químicos

Existen innumerables procesos naturales originados por el hombre que pueden lanzar al medio ambiente agentes físicos y químicos de una manera inadecuada o con riesgo para las diferentes formas de vida, ya sea desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo. Dentro de los agentes físicos más importantes se destacan las radiaciones, el ruido, la vibración, las alteraciones de la temperatura y las alteraciones de la presión. En relación con los agentes químicos, la situación se vuelve bastante compleja debido al elevadísimo número de sustancias que utiliza el hombre hoy en día bajo las más diversas formas y en los más variados procesos.

Hay indicaciones de que en todo el mundo se están empleando algo así como 600 mil productos químicos industriales. Este dato llega a ser alarmante cuando, a la luz de la toxicología, se recuerda que toda sustancia química está provista de algún grado de toxicidad, esto es, de alguna capacidad de inducir acciones y efectos nocivos sobre los seres vivos.¹

De esta manera, estamos delante de millares de agentes químicos que, dependiendo de las actividades humanas

¹Crónica de la OMS, 30: 344-51, 1976.

pueden actuar como contaminantes del ambiente (aire, aguas, suelos, alimentos) y todos ellos poseedores de algún potencial tóxico, lo que, a su vez, podrá representar diferentes formas de peligros para los organismos vivos de los ecosistemas. Es conveniente que se comprenda la distinción de significados entre los términos toxicidad, peligro, riesgo y seguridad. Para esto resulta útil consultar la obra de la Organización Mundial de la Salud: "Principios y métodos para evaluar la toxicidad de las sustancias químicas". Parte I. Criterios de Salud Ambiental 6, 1980. Publicación Científica OPS No. 402.

3. Principales agentes químicos contaminantes del aire, de las aguas y de los suelos

3.1 Contaminantes del aire

Las fuentes de contaminación de la atmósfera, en cuanto a su origen, pueden clasificarse en naturales (que hasta cierta extensión no dependen de la intervención humana, por ejemplo, polvaredas levantadas por el viento, o polen, o nieblas formadas por evaporación de lagos u océanos, etc.) y en artificiales o de origen humano, porque son generadas por la actividad del hombre, por ejemplo: procesos industriales, quema de combustibles, uso de vehículos, etc.). En cuanto a su posición, pueden dividirse en fijas y móviles (ejemplo de estas últimas son los vehículos automotores). Pueden aún ser catalogadas en puntuales (un punto único de emisión, por ejemplo las chimeneas de una industria) y dispersas (por ejemplo la aplicación de plaguicidas en un área agrícola). Considerando sólo las fuentes artificiales, son innumerables los procesos industriales y/o agrícolas y/o tecnológicos que pueden generar agentes contaminantes atmosféricos por el lanzamiento inadecuado de agentes químicos o físicos. Siendo así, por lo menos en términos potenciales, la cantidad de agentes que pueden estar presentes como contaminantes en la atmósfera es bastante grande.

En principio, en la vecindad de cada proceso se encontrarán diferentes posibilidades de contaminación. Por

ejemplo, a título ilustrativo, en la vecindad de una refinería de petróleo se podrán detectar concentraciones atmosféricas elevadas de ciertos disolventes orgánicos; en las cercanías de purificadoras de minerales y fundiciones se podrán encontrar cantidades apreciables de polvo y humo metálicos en la atmósfera; en las proximidades de industrias de cemento o de fertilizantes se podrá encontrar una alta concentración de partículas de material (polvo) en suspensión en la atmósfera, etc.

En la Tabla 1 se presentan algunos de los más importantes tipos de fuentes artificiales de contaminación de la atmósfera y los principales contaminantes emitidos por ellas.

Además de las situaciones peculiares de contaminación química de la atmósfera que se pueden presentar en la vecindad de ciertas actividades específicas y localizadas, existe un grupo de contaminantes que está presente, de una manera más o menos uniforme, en el aire de las ciudades industriales y poseedoras de gran cantidad de vehículos automotores. Dicho grupo incluye: monóxido de carbono, los óxidos de azufre (destacándose el dióxido), los hidrocarburos (entre los cuales destacan las olefinas con doble ligadura interna, como el trans-2-buteno, las olefinas con doble ligadura externa como el butadieno, el buteno, el propileno, el etileno, el xileno y aldehídos; el tolueno, la acroleína y las parafinas con C_nH_{2n+2} , $n > 6$; las parafinas con $1 < n < 5$, el acetileno y el benceno), el material particulado y los óxidos de nitrógeno (sobresaliendo el NO). Además de éstos, conviene también hacer referencia a la llamada contaminación fotoquímica, caracterizada por la presencia de ozono, formaldehído, acroleína y nitrato de peroxiacetilo (PAN).

TABLA 1 Fuentes artificiales de contaminación de la atmósfera y principales contaminantes químicos emitidos ²

FUENTE	PRINCIPALES CONTAMINANTES EMITIDOS
Industrias metalúrgicas (metales ferrosos y no dióxido ferrosos)	Monóxido de carbono, humos de óxidos metálicos, humos, polvos de azufre.
Industrias de manufactura y de acabado de metales y equipos en general	Humos metálicos, humos, polvos, nieblas, vapores de solventes orgánicos.
Procesamiento de minerales	Gases explosivos, polvos, monóxido de carbono.
Industrias de productos alimenticios	Polvos, sustancias odoríferas.
Industrias mecánicas y de material eléctrico y de comunicación	Polvos, humos, nieblas, vapores de solventes.
Industrias de papel y cartón	Sulfuro de hidrógeno, mercaptanos y material particulado.
Industria de la madera y mobiliaria	Polvos, humos, vapores de disolventes orgánicos.
Industrias de fertilizantes N, P, K	Polvos conteniendo fluoruros y fosfatos.
Industrias petroquímicas, químicas y farmacéuticas	Innumerables formas de contaminación química de la atmósfera

²Parcialmente basada en trabajos del Dr. Fernando A. Guimaraes, de la Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, CETESB, São Paulo, Brasil.

Otros contaminantes químicos que pueden existir con perfiles de cierta semejanza, en cuanto a los aspectos cualitativos/cuantitativos en la atmósfera de ciudades con gran cantidad de vehículos automotores, son el plomo, dado que la gasolina que se quema tiene adicionado plomo tetra-etilo como antidetonante, y los aldehídos y ácidos acéticos, y fórmico en los casos en que se esté empleando el etanol como combustible.

Los contaminantes químicos de la atmósfera, de acuerdo a la manera como aparecen en ella, pueden clasificarse en primarios y secundarios. Los primarios son aquéllos emitidos directamente como tales por fuentes identificables de contaminación. Están en la atmósfera en la misma forma en que son lanzados. Por otro lado, los secundarios son nuevos contaminantes que se forman en el aire a partir de reacciones entre los anteriores emitidos y/o reacciones entre éstos y los constituyentes normales de la atmósfera. Así por ejemplo, el ácido sulfúrico y los sulfatos se pueden formar como contaminantes secundarios por reacciones químicas del dióxido de azufre inicialmente emitido. De modo semejante, el ácido nítrico y los nitratos pueden surgir como productos de reacciones de los óxidos de nitrógeno originalmente liberados a la atmósfera. Una clase muy importante de contaminantes secundarios es la de los nitratos de peroxiacilo, dentro de los cuales se distinguen el nitrato de peroxiacetilo (PAN) y el nitrato de peroxibenzoilo (PBzN), los cuales se forman en la atmósfera a partir de reacciones que implican a los hidrocarburos, al ozono y al dióxido de nitrógeno.

En relación con sus principales características de composición, la contaminación general de la atmósfera puede dividirse en dos categorías. Existe la del tipo reductor, definida por la presencia de dióxido de azufre y del humo resultante de la quema incompleta de combustibles fósiles (principalmente carbón), por la presencia de neblina y de bajas temperaturas (lo que puede generar fenómenos meteorológicos de inversión térmica), y existe la

de tipo oxidante o fotoquímica, caracterizada por la presencia de hidrocarburos, óxidos de nitrógeno y oxidantes fotoquímicos. Existen varios registros de episodios críticos de contaminación del aire del tipo reductor en diferentes ciudades del mundo y que produjeron serias consecuencias para la salud de las poblaciones de los lugares afectados: Valle del río Meuse, Bélgica, 1930; Donora, Pennsylvania, Estados Unidos de América, 1948; Londres, Inglaterra, 1952, etc.

3.2 Contaminantes de las aguas y de los suelos

Las fuentes de contaminación de las aguas y de los suelos, en cuanto a su origen, pueden también clasificarse en naturales y artificiales. Entre las primeras están las lluvias (bajo ciertos aspectos), la erosión de las márgenes de los ríos, los procesos de salinización y de descomposición de vegetales. Las segundas, relacionadas normalmente con la actividad humana, se pueden dividir en: agropecuarias, industriales, domésticas y urbanas. Desde el punto de vista de introducción de muchos y diferentes agentes químicos en el ambiente, las fuentes artificiales de emisión relacionadas con los trabajos agrícolas e industriales son las más importantes.

En cuanto a la forma de emisión, las fuentes pueden también subdividirse en puntuales o dispersas. La contaminación causada por las fuentes puntuales es normalmente fácil de identificar y, casi siempre, se permite la planificación y aplicación de medidas eficaces de control, mientras que la contaminación generada por las fuentes dispersas es generalmente menos drástica o perceptible en sus efectos iniciales y resulta mucho más difícil de corregir.

Entre las principales actividades que producen agentes contaminantes de las aguas, pueden citarse: industrias del papel y celulosa, industrias siderúrgicas y metalúrgicas; industrias textiles; mataderos y frigoríficos; curtiembres, etc.

Si por un lado, la contaminación microbiológica de las aguas, causada principalmente por la emisión de aguas

de desecho doméstico, puede detectarse razonablemente por la presencia de organismos indicadores, es mucho más complejo caracterizar la contaminación química generada por las actividades industriales y agropecuarias y es difícil que se pueda contar a nivel nacional con un inventario detallado de este tipo de contaminación. Los desechos industriales pueden contener cantidades apreciables, reducidas, o vestigios de las materias primas empleadas, de los productos acabados, de las impurezas, etc. La composición cualitativa y cuantitativa de los efluentes líquidos de una industria sólo se podrá conocer mediante análisis químicos exhaustivos. Así, tomando en cuenta la diversidad del parque industrial, el conjunto completo de todos los agentes químicos presentes en su emisión líquida, alcanzaría la cifra de varios millares. Por otro lado, la utilización en la actividad agropecuaria de un número muy grande de distintas categorías de productos con diferentes finalidades, destacándose: insecticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas, garrapaticidas, etc., hace que los suelos y las aguas (tanto las de superficie como las subterráneas) resulten contaminados después del uso, especialmente si durante éste no se atendió a las recomendaciones adecuadas.

Con todo, a pesar de la extensa relación de los contaminantes químicos de las aguas y los suelos, algunas sustancias o grupos, merecen citarse ya sea por los problemas tóxicos que causan o bien por el riesgo que representan para la salud humana y al ambiente. Estos contaminantes se presentan en el Cuadro I.

CUADRO I - Principales agentes químicos contaminantes de las aguas y los suelos

Plaguicidas

no persistentes	herbicidas fenoxiacéticos
	herbicidas fenilcarbamatos y
	carbanilatos
	fungicidas etilenobisditiocarbamatos y
	dimetilditiocarbamatos
moderamente persistentes	insecticidas organofosforados y
	carbamatos
persistentes	herbicidas triazínicos
	herbicidas fenilureicos
persistentes	insecticidas organoclorados
	herbicidas catiónicos (bipiridilos)

Hidrocarburos aromáticos polinucleares (HAP)

benzo(a)pireno (BP)

hidrocarburos aromáticos halogenados

bifenilos policlorados (PCB)
 clorofenoles (pentaclorofenol
 dioxinas (2,3,7,8-tetraclorodibenzo-
 -p-doxina)
 ftalatos plastificantes (di-2-etil--
 hexilftalato, DEHP; di-n-butylftalato,
 DBP)

Hidrocarburos halogenados de bajo peso molecular

trihalometano (THM-cloroformo, bromodibromometano,
 clorodibromometano, bromoformo)
 tetracloruro de carbono
 1,2-dicloroetano

Metales, metaloides y compuestos organometálicos

arsénico, selenio

plomo, cadmio, mercurio y metilmercurio

Iones inorgánicos

sulfuro, sulfito, bisulfito, nitrato/

nitrito, fosfato, fluoruro, cianuro.

Asbesto

Detergentes

Colorantes y pigmentos

Aceites

Toxinas

Radionucleidos

**4. Efectos nocivos de los principales contaminantes
químicos del aire, las aguas y los suelos sobre la
salud del hombre y del ambiente**

La intención de esta obra no es tratar sobre la ecotoxicología de los principales contaminantes químicos del ambiente. Estos aspectos ecotoxicológicos han sido bien enfocados en distintas obras de la Organización Mundial de la Salud y de la Organización Panamericana de la Salud, sea en forma de revisiones de conjunto, como en "Riesgos del ambiente humano para la salud", sea en forma de revisiones críticas detalladas, como en la serie "Criterios de salud ambiental" (consultar la bibliografía).

De manera general se puede recordar mientras tanto, que la exposición humana ambiental por corto plazo a altas concentraciones de agentes químicos presentes en el aire, aguas y suelos no es la más frecuente.

La presencia de elevadas cantidades de contaminantes en el aire, por ejemplo, será función de las tasas de emisión de industrias, vehículos automotores y fuentes

domésticas de una región dada y de las condiciones meteorológicas existentes en el momento para la dispersión de los contaminantes. Se sabe hoy que éstos, llamados "episodios agudos de contaminación del aire" están directamente correlacionados con el aumento de la morbilidad y de la mortalidad de la población expuesta, principalmente respecto a complicaciones respiratorias y cardíacas y principalmente entre los sectores de población más susceptibles, como los niños, los ancianos y los ya enfermos. Esta correlación es verdadera tanto para la contaminación de tipo reductor como para la de tipo oxidante.

La presencia de altas concentraciones de agentes tóxicos en aguas potables o en ecosistemas acuáticos acostumbra también estar más comúnmente relacionada con episodios accidentales de derrame o pérdidas y es raro que tales hechos pasen desapercibidos para las autoridades de salud.

No obstante la extrema importancia de la exposición por cortos periodos a concentraciones elevadas, lo que más ha intrigado y ha llamado la atención de los toxicólogos son las consecuencias para la salud humana y el ambiente de la exposición continua o prolongada a bajas concentraciones del agente tóxico. Esta parece ser aún la forma más común de exposición ambiental de diferentes poblaciones a agentes químicos.

Es difícil prever lo que puede resultar como repercusión negativa para la salud de las exposiciones por largos periodos a bajas dosis de múltiples agentes químicos (y no se están tomando aquí en consideración las situaciones particulares de exposiciones voluntarias, por ejemplo los fumadores, o en el ambiente de trabajo, o en el ambiente doméstico). Muchas intoxicaciones crónicas o a largo plazo ya son bastante conocidas y fueron registradas en situaciones de exposición ambiental como la enfermedad de Minamata, causada por ingestión crónica de metilmercurio, o lo que es más frecuente, detectadas y estudiadas en situaciones de exposición ocupacional: saturnismo, mercurialismo, arsenicismo, bencenismo, pneumoconiosis, etc. Es difícil estimar la extensión en que se están produciendo efectos nocivos

subclínicos en el ser humano por este cuadro de exposición múltiple a bajas concentraciones durante largos periodos. No se puede dejar de pensar en este momento incluso, en los mecanismos de la mutagénesis, de la carcinogénesis y de la teratogénesis.

Por esto, es fundamental que las investigaciones toxicológicas den bastante énfasis al estudio del mecanismo de la acción tóxica del agente, principalmente a los procesos bioquímicos implicados en la lesión celular. Por este medio podrá ser posible la planificación de pruebas específicas de laboratorio que permitan "diagnosticar" anticipadamente la existencia de anormalidades en el organismo, resultantes de exposiciones que aún no desembocan en la manifestación clínica evidente. Por lo tanto, es innecesario considerar las ventajas que tales pruebas bioquímicas traen consigo. Son ejemplos: la determinación de la actividad enzimática del ácido delta-aminolevulinico-deshidratasa (δ -ALAD) en el caso de exposición ambiental de poblaciones al plomo; la determinación de la actividad eritrocítica de acetilcolinesterasa en el caso de la exposición ambiental (y también ocupacional) de poblaciones a insecticidas organofosforados y carbamatos, etc.

5. Relaciones dosis-efecto y dosis-respuesta y vigilancia toxicológica de la exposición humana a contaminantes químicos del ambiente

La asociación correcta entre la dosis (entendida como la cantidad de agente químico absorbida por el organismo) y la vía de introducción del agente en el organismo, puede revelar la toxicidad de cualquier xenobiótico. Por esto, no existen sustancias químicas desprovistas de toxicidad y, por tanto, desprovistas de riesgo. Existen sí, y pueden definirse condiciones más seguras y menos seguras de utilización y/o contacto de los seres vivos con los agentes químicos. La toxicología y la ecotoxicología buscan conocer y delinear estas condiciones a fin de restringir al mínimo el riesgo para la salud del hombre y del ambiente, cuando se da el caso de contacto con agentes químicos. Para esto se utiliza diferentes formas de estudios, principalmente, la realización de investigaciones experimentales (sea con animales de laboratorio- la más extensamente empleada, sea con voluntarios humanos) y la ejecución de encuestas epidemiológicas. La reunión de los resultados de estos estudios para el caso de un agente químico específico, puede: auxiliar en la previsión del tipo de lesión causada por una exposición excesiva; aclarar el mecanismo de la acción tóxica; sugerir la elaboración de pruebas biológicas para la detección precoz de una exposición ya excesiva, pero que aún no implica ocurrencia de la sintomatología de la intoxicación, en este terreno se inserta el importantísimo capítulo de los Indicadores Biológicos de la Exposición (IBE); estimar el grado máximo de exposición a un agente al cual los seres vivos pueden permanecer sometidos sin una consecuencia dañina para su salud, lo que en el plano práctico se traduce por la fijación de Límites de Tolerancia, de Patrones de Calidad y de Ingestiones Diarias Aceptables; promover la comprensión de las diferentes formas de interacciones entre los efectos de dos o más agentes cuando son absorbidos en conjunto por el organismo (adición, sinergismo, antagonismo); posibilitar la planifica-

ción racional de antidotos para el tratamiento de intoxicaciones.

Los estudios toxicológicos permiten demostrar que para una cantidad muy grande de efectos tóxicos, se establece entre el agente químico y el organismo vivo una relación de las dosis absorbidas con la intensidad de los efectos correspondientes producidos. Esta relación dosis-efecto es creciente, es decir, para cada incremento de dosis absorbida (o sea, la cantidad presente en la sangre) ocurre, en forma asociada, corresponde un aumento en la intensidad del efecto en observación. Así, las dosis variarán desde aquellas que no provocan efectos notables a las que producen el efecto máximo en el organismo (que puede ser incluso la muerte). En algunos casos se puede disponer de información suficiente sobre la relación dosis-efecto entre el ser humano y el agente químico, de tal suerte que permita reconocer cuál es la dosis máxima presente en el organismo que produce un nivel de efecto todavía aceptable y que no compromete la integridad de dicho organismo. Cuando esto sucede, se denomina a esa dosis, máxima o efecto máximo aceptable, Límite de Tolerancia Biológico (LTB). El LTB y, evidentemente, el Indicador Biológico de Exposición (IBE) para el cual está fijado puede entonces aprovecharse en el campo práctico de la ecotoxicología en programas de vigilancia epidemiológica para la exposición de una población de mayor riesgo a un contaminante químico dado. Tal hecho justifica, más que nunca, la importancia de los análisis toxicológicos y la necesidad de implantación de laboratorios de ecotoxicología. Si es necesaria una mayor comprensión del significado y de las implicaciones de las relaciones dosis-efecto y dosis-respuesta, se considera oportuna la consulta de la obra ya referida de la Organización Mundial de la Salud "Principios y métodos...".

Los Indicadores Biológicos de Exposición (IBE), que se definen a partir de los estudios toxicológicos (de la toxocinética y la toxodinámica de los agentes químicos), significan : a) la presencia del agente químico bajo su forma inalterada en constituyentes del organismo (por

ejemplo: sangre, orina, aire exhalado, cabello, uñas, saliva, lágrimas) y dicha presencia revelará la absorción de la sustancia, lo que a su vez, se correlacionará con el grado de exposición ambiental del organismo al agente; b) la presencia en constituyentes del organismo de un producto resultante de la biotransformación del agente químico, lo que también revelará la absorción y el grado de exposición; c) la alteración de la actividad de algunas enzimas en el transcurso de la acción del agente químico, o la alteración cualitativa o cuantitativa de ciertos parámetros biológicos, lo que en ambos casos refleja ya la acción del tóxico sobre el organismo y se asocia también con los niveles de absorción y, por lo tanto, de exposición.

Los Límites de Tolerancia Biológica (LTB) para la exposición humana, extraídos básicamente del conocimiento de las curvas de las relaciones dosis-efecto y dosis-respuesta, significan los valores máximos que los IBE pueden asumir sin que ésto implique un riesgo inaceptable para la salud de los individuos o las poblaciones expuestas al agente químico en consideración. Se debe destacar una vez más que, como regla, el valor LTB está muy abajo de las zonas de intensidad de efecto que ya se traducen clínicamente, esto es, en términos de la Historia Natural de la Enfermedad, se sitúa en la franja de efectos "sub-clínicos" de franca reversibilidad, cuya percepción sólo puede alcanzarse a través de los análisis toxicológicos dirigidos.

En la Tabla 2 se presentan algunos de los más importantes agentes químicos que pueden actuar como contaminantes del medio ambiente general y los Indicadores Biológicos de Exposición respectivos, que pueden explorarse en programas de vigilancia para evaluación del grado de exposición humana al agente respectivo.

La simple inspección visual de la Tabla 2 demuestra el inmenso campo de trabajo en análisis toxicológicos que existe para ser desarrollado por los toxicólogos y hacer ver también que la complejidad de un laboratorio de ecotoxicología puede variar enormemente de acuerdo con la

diversidad y la cantidad de problemas de exposición ambiental a agentes químicos que se esté enfrentando.

Por otro lado, no se debe perder de vista que un efecto tóxico surge en función de la exposición excesiva de un organismo vivo a un xenobiótico. Con esto entendemos la existencia de un binomio agente tóxico-huésped y, por lo tanto, en términos de vigilancia tóxico-epidemiológica de la exposición, así como es posible y preciso realizar la evaluación biológica a través de la utilización de los IBE se puede y es igualmente necesario describir el medio ambiente por medio de la evaluación (monitorización) del agente químico o físico presente en él, puesto que sólo así se podrá establecer relaciones de causa-efecto entre la exposición y las alteraciones de parámetros bioquímico-toxicológicos. Este hecho, está claro, abre toda una línea de trabajo en análisis químicos que también podrá desarrollar perfectamente el laboratorio de ecotoxicología.

TABLA 2 - Algunos contaminantes químicos importantes del medio ambiente y sus principales Indicadores Biológicos de Exposición (IBE) para el caso humano

AGENTE QUIMICO	IBE
1. Sustancias orgánicas	
1.1 Hidrocarburos aromáticos no sustituidos:	
Benceno	Fenol urinario
Bifenilo	4-Hidroxibifenilo urinario
Cumeno	2-Fenilpropanol urinario
Estireno	Acido mandélico urinario. Acido fenilglioilico urinario
Isopropilbenceno	Dimetilfenil carbinol urinario
Tolueno	Acido hipúrico urinario
Xileno(isómeros m y p)	Acidos m y p metilhipúrico urinario
1.2 Hidrocarburos aromáticos halogenados:	
p-Diclorobenceno	2-5 Diclorofenol urinario
1.3 Hidrocarburos aromáticos hidroxilados:	
Fenol y compuestos fenólicos	Fenol y compuestos fenólicos urinarios
1.4 Hidrocarburos alifáticos halogenados:	
Diclorometano	Carboxihemoglobina sanguínea
Tetracloroetileno	Acido tricloroacético

1,1,1-Tricloroetano	urinario y/o tricloroetanol urinario Acido tricloroacético urinario y/o tricloroetanol urinario
Tricloroetileno	Acido tricloroacetico urinario y/o tricloroetanol urinario
Otros: cloruro de vinilo, cloroformo, tetracloruro de carbono	el propio agente en el aire expirado
1.5 Amidas:	
Dimetilacetamida	N-Metilacetamida urinaria
Dimetilformamida	N-Metilformamida urinaria
1.6 Alcoholes, glicoles y ésteres:	
Acetato de metilo	Metanol urinario
Etanol	Etanol urinario
Etilenoglicol	Acido oxálico urinario
Metanol	Metanol urinario
1.7 Derivados aminados y nitrados:	
Anilina	Metahemoglobina sanguínea p-Aminofenol urinario
Nitrobenceno	Metahemoglobina sanguínea p-Nitrofenol urinario
Dinitro-o-cresol	Amino-4-nitro-o-cresol urinario

1.8 Nitrilos alifáticos:

Acetonitrilo

Tiocianato urinario

Acrilonitrilo

Tiocianato urinario

1.9 Compuestos tiólicicos:

Disulfuro de carbono y

Metabolitos compuestos

-C-SH o C=S

con el grupo urinario

(p.ejem. mercaptotiazolida y tiocarbamatos)

1.10 Plaguicidas organoclorados:

Aldrin

Aldrin y/o dieldrin
séricos

Derivados del ácido fenoxiacético:

Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)

2,4-D urinario

Ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T)

2,4,5-T urinario

Diclorodifeniltricloroetano (DDT)

DDT sérico. Diclorodifenildicloroetileno (DDE) sérico. Ácido diclorodifenilacético (DDA) urinario

Dieldrin

Dieldrin sérico

Endrin

Endrin sérico

Heptacloro

Heptacloro-epóxido sérico

Heptacloro-epóxido

Heptacloro-epóxido sérico

Heptaclorobenceno

2,4,5-Triclorofenol urinario

Lindano

Lindano sérico

Pentaclorofenol

Pentaclorofenol urinario

1.11 Plaguicidas organo- fosforados y carbamatos	Actividad colinesterásica sanguínea (plasmática y/o eritrocítica)
2. Sustancias inorgánicas y organometálicas:	
Antimonio	Antimonio urinario
Arsénico	Arsénico en el cabello Arsénico sanguíneo Arsénico urinario
Cadmio	Cadmio sanguíneo Cadmio urinario
Plomo	Plomo sanguíneo Acido delta-aminolevul- nico (δ ALA) urinario Coprotopfirinas urinarias Actividad eritrocítica del ácido delta-aminolevulinico deshidratasa (δ ALA)
Plomo tetraetilo	Plomo urinario
Cianuros	Tiocianato urinario Cianuro sanguíneo
Cobalto	Cobalto urinario
Cromo	Cromo sanguíneo Cromo urinario
Estroncio	Estroncio urinario
Fluoruros	Fluoruro urinario
Manganeso	Manganeso sanguíneo Manganeso urinario
Mercurio	Mercurio urinario Mercurio total sanguíneo
Metilmercurio	Mercurio sanguíneo Mercurio en el cabello
Monóxido de carbono	Carboxihemoglobina sanguínea
Niquel	Niquel plasmático Niquel urinario
Niquel Carbonilo	Niquel urinario
Talio	Talio urinario

Uranio Zinc	Uranio urinario Zinc urinario
----------------	----------------------------------

6. Importancia del laboratorio de ecotoxicología para la salud pública y para la salud ambiental

Desde luego se deben reconocer las distintas posibilidades o misiones de un Laboratorio de Ecotoxicología.

El laboratorio puede estar destinado únicamente a la búsqueda del conocimiento toxicológico y con este objeto desarrollar investigaciones experimentales, principalmente con animales. En este caso poseerá instalaciones, equipos especiales para atender el tipo de trabajo que se propone, así como profesionales especializados. Dependiendo de la extensión y profundidad de estos trabajos necesitará, incluso, de instalaciones apropiadas para el mantenimiento de un bioterio. No es común que se encuentre un laboratorio ecotoxicológico destinado exclusivamente a la investigación.

Por otra parte, el laboratorio podrá dedicarse sólo a aplicar en la práctica los conocimientos toxicológicos ya adquiridos, tanto con la finalidad de prevención primaria como secundaria dentro de los niveles de aplicación de medidas preventivas en salud. Así, por ejemplo, en el primer caso se pueden nombrar programas específicos de vigilancia del riesgo en la exposición de poblaciones a un cierto agente químico basados en la eficacia, eficiencia, selectividad, sensibilidad y precocidad de un análisis toxicológico determinado: niveles de plomo y de carboxihemoglobina en la sangre de individuos que permanecen largo tiempo en áreas de mayor densidad de tránsito de vehículos automotores en grandes ciudades; niveles de metahemoglobina en la sangre de niños pequeños consumidores de aguas tratadas inadecuadamente; niveles de insecticidas organoclorados en la sangre de ciertos sectores de la población; niveles de metilmercurio en la sangre de grandes consumidores de peces oriundos de aguas contaminadas por mercurio; niveles de determinado agente tóxico en la sangre y/o en la orina de grupos de población habitantes del área de acción

de la fuente de emisión del agente, etc. En el segundo caso, el de la prevención secundaria, se echará mano de los análisis toxicológicos para el diagnóstico precoz de una intoxicación ya en su periodo patogénico. Este tipo de laboratorio ya se encuentra con relativa frecuencia. Finalmente, el laboratorio de ecotoxicología podrá desarrollar simultánea e integradamente los trabajos de investigación toxicológica y de análisis para la vigilancia de la exposición y para el diagnóstico de la intoxicación, lo que se considera como ideal.

Estos hechos demuestran claramente que el laboratorio de ecotoxicología es un recurso indispensable e insustituible para las acciones de mantenimiento y promoción de la Salud Pública y del Ambiente, puesto que a través de la investigación, ayuda a generar el conocimiento toxicológico necesario y después lo aplica para la detección de los casos centinela de exposiciones ya excesivas de poblaciones a agentes químicos contaminantes del ambiente, permitiendo así la corrección de situaciones que podrían volverse graves o de mucho mayor riesgo.

La complejidad y la sofisticación de un laboratorio de ecotoxicología podrán variar muchísimo y dependerán de sus propósitos y de los recursos financieros disponibles para ser invertidos en él. Por lo tanto, vale decir que las posibilidades analíticas del laboratorio podrán ser también muy flexibles.

A partir del próximo apartado se hará la descripción y la discusión de los requisitos necesarios para la instalación y operación de un laboratorio ecotoxicológico que pueda desarrollar algunos tipos de investigación toxicológica, así como atender a ciertos programas de vigilancia de la exposición humana a contaminantes químicos del ambiente.

7. Instalación de un laboratorio para estudios de ecotoxicología

7.1 Local y condiciones necesarias

Para la instalación de un laboratorio mínimo inicial para estudios ecotoxicológicos es necesaria un área

de 20 a 30 m², con la posibilidad de futuras expansiones. Se debe prever además un área externa al laboratorio y de fácil acceso para la instalación de cilindros de gases (acetileno, nitrógeno, oxígeno, óxido nitroso) y de un compresor de aire.

La instalación eléctrica debe prever un consumo de cerca de 5 Kw, y la alimentación de los instrumentos analíticos debe ser estabilizada, no permitiendo distorsiones armónicas superiores a 5%.

Se debe reservar un espacio de cerca de 40 x 40cm sobre un mostrador para la instalación de una campana con extracción forzada y tubería para llevar el aire, con gases y vapores, hacia el exterior.

Sobre el espectrofotómetro de absorción atómica es necesario que se instale un sistema local de extracción de aire, debiendo consultarse al proveedor del equipo para conocer las especificaciones adecuadas de este sistema.

Se debe instalar cerca de la puerta de salida, interna o externamente, una ducha de emergencia, un lavador de ojos, un extintor de incendios de polvo químico y un extintor de CO₂.

Las mesas de trabajo deben tener la altura adecuada para trabajar de pie y estar revestidos de material resistente al fuego y a los productos químicos y tener cerca de 2 m² libres además del espacio utilizado por el equipo.

Se debe prever un local para el lavado de material, semejante a una pileta de cocina, pero con revestimiento resistente a los ácidos.

El nivel de iluminación mínimo recomendado en la superficie de trabajo es de 250 lux.

7.2 Instrumental necesario

Para la preparación y análisis de las muestras, además de los frascos normales de laboratorio químico, serán necesarios, conforme a cada diferente tipo de trabajo:

7.2.1 Potenciómetro con sensibilidad para 0,01 unidades de pH, con electrodo para pH y otros electrodos ion-específicos como para fluoruros,

cloruros, etc.

7.2.2. Balanza analítica con sensibilidad para 0,01 g para pesar reactivos.

7.2.3 Balanza de precisión con sensibilidad de 0,00001 g para pesar filtromembranas, patrones y reactivos.

7.2.4 Espectrofotómetro de absorción atómica con sistema óptico de doble haz y corrector de fondo ("background") con lámpara de deuterio, acompañado de los elementos que se pretende analizar. Los más utilizados son los de:

hierro, plomo, manganeso, mercurio, cromo, zinc, níquel, cadmio, berilio y cobre.

7.2.5 Espectrofotómetro de longitud de onda en la región visible y ultravioleta.

7.2.6 Cromatógrafo gas-líquido con detectores de ionización de llama y captura de electrones y columnas para cromatografía conforme al trabajo específico que se tenga necesidad de desarrollar.

7.2.7 Un refrigerador común de tipo doméstico.

7.2.8 Estufa de secado y esterilización hasta 300°C.

Habiendo necesidad de analizar asbesto en material particulado, se recomienda un microscopio binocular con aumento de alrededor de 450 diámetros e iluminación por contraste de fase.

Además de los artículos anteriores, deben ser previstos equipos auxiliares tales como calentadores, digestores y material de vidrio adecuado para ser especificado conforme con las necesidades analíticas del laboratorio. Esta flexibilidad en la estructuración es importante para evitar la adquisición de algunos equipos innecesarios o la ausencia de otros.

7.3 Consideraciones sobre la preparación de reactivos

La preparación de reactivos para análisis ecotoxicológicos no presenta grandes diferencias con la que se hace para otros análisis, siendo preciso, sin embargo,

observar un gran cuidado con la limpieza de los recipientes de vidrio a ser utilizados y con la pureza de los reactivos empleados, pues de un modo general, se determinan microgramos de sustancias y a este nivel una pequeña contaminación es suficiente para comprometer totalmente los resultados.

Además del lavado normal con jabón neutro, los frascos que se emplearán en el análisis de metales deben lavarse con ácido diluido, siguiendo un lavado con agua común y finalmente con agua desionizada. Los frascos, que se emplearán en la determinación cuantitativa de sustancias orgánicas deben ser lavados con el solvente orgánico adecuado.

Los frascos a ser empleados en análisis de insecticidas organoclorados (y también de otros hidrocarburos aromáticos clorados) deben lavarse con una solución nitrocromica, seguida de un lavado con disolvente orgánico puro, exento de insecticidas y colocado en la estufa a 300°C durante 12 horas (para el caso de los frascos no volumétricos).

Los reactivos utilizados deben ser de buena procedencia y pureza; deben mantenerse cerrados y es necesario evitar la colocación de cualquier objeto en su interior o de restos de reactivos, lo que podría originar contaminaciones.

Si se tuviera necesidad de utilizar un reactivo sin la pureza necesaria para el análisis, se deberá proceder a una purificación previa del mismo. El medio más común es la destilación. Este proceso permite purificar ácido nítrico, cloroformo, piridina, tetracloruro de carbono, metilisobutilcetona y otros; siendo conveniente en algunos casos emplear presión reducida. Se utiliza también la purificación por mezcla con reactivos seguida de decantación y filtración. Para este tipo de actividad se recomienda, como mínimo, un destilador de vidrio borosilicato con capacidad de un litro

Se debe dar atención especial a las soluciones patrón, que son fundamentales para los análisis ecotoxicológicos. Las soluciones finales deben hacerse en el día del análisis mientras que las más concentradas pueden

almacenarse por periodos mayores. Se deben tener todos los cuidados para prevenir la contaminación o el error en la preparación o en el uso de soluciones patrón.

7.4 Eliminación de residuos de laboratorio

El laboratorio de ecotoxicología no es necesariamente un gran contaminador, se deben tomar sin embargo algunas providencias para que la contribución a la contaminación ambiental sea mínima.

Los residuos de disolventes clorados, como cloroformo y tetracloruro de carbono no deben arrojarse al sumidero, pudiendo reutilizarse después de una purificación adecuada o en todo caso, deben ser incinerados.

Los residuos de sustancias inflamables como metilso-butilcetona pueden arrojarse al sumidero, pero mezclados con gran cantidad de agua.

Los residuos de ácidos o álcalis deben diluirse bastante antes de arrojarlos, debiendo tener cuidado con la presencia de sustancias incompatibles como ácidos y cianuros.

La eliminación de vidrios rotos debe hacerse envolviendo los fragmentos en papel de modo de evitar heridas en los cargadores de basura.

La salida de gases y vapores liberados en el laboratorio debe hacerse de modo que no se permita su entrada por ventanas próximas, al mismo laboratorio o a otros edificios.

7.5 Medidas de protección en el laboratorio

La prevención de accidentes debe iniciarse en el proyecto de instalación. Se deben prever áreas libres para la circulación segura de personas, las puertas deben tener vidrios en la parte superior a fin de permitir la visibilidad del lado opuesto.

Los inflamables deben guardarse, de preferencia en armarios bajos y de acero.

Los ácidos deben colocarse en armarios bajos para reducir el riesgo de caída de los frascos. El almacenamiento de diferentes productos debe hacerse de forma tal, que en

casos de emergencia no entren en contacto productos incompatibles.

La manipulación de ácidos concentrados, la mineralización de filtros membrana con ácido nítrico y el lavado de los frascos con ácido nítrico, entrañan cierto riesgo, el cual puede controlarse fácilmente con el uso de guantes de PVC y la manipulación cuidadosa de los frascos, a fin de evitar salpicaduras.

La utilización de anteojos de seguridad se recomienda en las operaciones que puedan producir salpicaduras.

Los gases y vapores representan un riesgo común en el laboratorio, debiéndose tener cuidado de manipular las sustancias volátiles bajo la campana o, por lo menos, en un ambiente bien ventilado.

Los cilindros de gases comprimidos deben inspeccionarse periódicamente, buscando posibles fugas. El nitrógeno puede provocar asfixia simple en locales mal ventilados y el acetileno, además de la asfixia, provoca anestesia y explosión.

Al analizar muestras biológicas se debe prevenir el riesgo de contaminación por microorganismos. Aunque las muestras de interés para la toxicología no procedan normalmente de personas portadoras de enfermedades transmisibles, todo el material que entra en contacto con muestras biológicas debe limpiarse y desinfectarse adecuadamente. Para esto, conviene que se eviten productos a base de formol debido a la posible capacidad carcinógena de éste.

A fin de prevenir cortaduras con vidrio roto, como regla práctica, cualquier objeto de vidrio roto o astillado no debe utilizarse y lo aconsejable es que el mismo sea enviado para arreglo o adecuadamente descartado.

7.6 Control de calidad de los análisis del laboratorio

El control de calidad de los análisis debe ser una preocupación constante del toxicólogo. Además de los cuidados ya referidos para evitar la contaminación de los reactivos, se debe verificar y calibrar periódicamente todo el instrumental analítico.

Los análisis deben realizarse preferentemente por

duplicado y no considerarse los resultados con variaciones superiores a 10%.

El modo de trabajo debe siempre prever además de la muestra, un patrón y un blanco. El patrón puede ser solo o adicionado a la muestra, dependiendo de la técnica o método empleado, pero de cualquier forma el patrón es fundamental, debiendo utilizarse patrones puros e internacionalmente reconocidos.

El blanco debe componerse de reactivos solamente, pudiendo usarse una alícuota de agua cuando sea necesario. Es conveniente la utilización de muestras simuladas, con concentraciones certificadas por organizaciones internacionales, como blanco o como patrones.

En virtud de la dificultad de obtener estos patrones, se puede utilizar, como control, muestras obtenidas en el propio medio. Por ejemplo, si se analizaran muestras de personas expuestas a metales, sería interesante aumentar, por iniciativa del propio laboratorio, algunas muestras obtenidas de personas que no tengan ninguna exposición ambiental a metales. Estas muestras no tendrán necesariamente concentración cero, pero con certeza deben generar valores bajos, dentro de la normalidad.

Otra forma de control de calidad es la adición de una alícuota conocida de patrón en muestras y el posterior análisis de la muestra original y de la adicionada.

Para un buen control de calidad se deben emplear, siempre que sea posible, métodos analíticos reconocidos e indicados por entidades relacionadas al asunto y que se puedan encontrar en publicaciones como el "NIOSH Manual of Analytical Methods" y "Methods of Air Sampling and Analysis" de la "APHA Intersociety Committee" (consultar la bibliografía).

Obligadamente durante la implantación de un método analítico, y periódicamente después de su entrada en rutina, se deben realizar pruebas de precisión, sensibilidad, exactitud y recuperación. Estas pruebas se vuelven mucho más importantes si se utilizan métodos "no oficiales" o simplificados.

La prueba de precisión se realiza con el análisis de varias muestras de igual valor y calculando el desvío patrón y el coeficiente de variación.

La prueba de sensibilidad se hace a través del análisis de patrones con pequeñas diferencias entre sí, teniendo como objetivo determinar el límite de detección.

La exactitud del método analítico puede verificarse con el uso de soluciones-patrón o de análisis de muestras conocidas o aun a través de comparación interlaboratorio, con el análisis de una misma muestra por diferentes laboratorios.

Teniendo por objetivo determinar la pérdida de la sustancia a ser cuantificada o la ganancia de la misma por contaminación, se determina la recuperación del método, a partir de la adición de patrones en cantidades conocidas.

7.7 Obtención de muestras de material biológico

Es de fundamental importancia que la obtención de muestras de material biológico se realice de conformidad con el método analítico, o sea en cantidad y calidad adecuadas. Debe verificarse con anticipación la forma de toma de la muestra para que se tenga el volumen necesario para la determinación cuantitativa por duplicado y si es posible tener todavía un volumen de reserva para repetición del análisis si es necesario.

En el caso de sangre, se debe saber cuál es el tipo y la cantidad de anticoagulante necesaria, se recomienda la toma de muestras de sangre en jeringas plásticas y remitidas al laboratorio en la propia jeringa, evitándose al máximo la transferencia de un recipiente a otro, a fin de restringir la posibilidad de contaminación.

Se debe dar atención especial al recipiente para la recolección de las muestras, tanto para la sangre como para la orina, el cual necesita ser probado anteriormente para detectar una eventual contaminación. Los recipientes plásticos son generalmente adecuados, exceptuándose el caso de análisis de insecticidas organoclorados, en los cuales es conveniente el uso de recipientes de vidrio.

Se debe observar también que la toma de la muestra

debe estar íntimamente relacionada con lo que se quiere demostrar. Si el objetivo es determinar la exposición a metales, el día y la hora de la obtención de la muestra no tiene tanta importancia, pues los metales con media vida biológica larga no presentan sus concentraciones sanguíneas o urinarias alteradas significativamente en pocas horas, o hasta en algunos días después de que cesa la exposición.

Para otras sustancias, sin embargo, como disolventes o plaguicidas es importante que el momento de la toma de la muestra sea el más próximo posible a la exposición y cada caso debe estudiarse aisladamente.

7.8 Conservación de la muestra

La conservación de muestras de contaminantes ambientales generalmente no presenta problemas por ser estables. En los casos de sustancias volátiles se las debe mantener bajo refrigeración para evitar pérdidas.

A su vez, las muestras biológicas son más sensibles al deterioro. Para metales, se admite que la conservación es satisfactoria hasta dos semanas en refrigeración (4°C). Para sustancias orgánicas, el plazo es menor llegando a ser de algunas horas o incluso, en algunos casos, el análisis debe iniciarse lo más pronto posible como en la determinación de la actividad enzimática.

8. Conclusiones y recomendaciones

Es cuestionable la importancia que revisten actualmente los análisis ecotoxicológicos con el propósito de detectar, definir y controlar los innumerables riesgos relacionados con sustancias químicas y que constituyen problemas de salud pública. Siendo así, es imprescindible que los órganos gubernamentales de salud y del ambiente creen y mantengan laboratorios específicamente proyectados para la realización de actividades en el área de la ecotoxicología con una infraestructura mínima necesaria y bajo orientación de profesionales adecuadamente formados.

9. Bibliografia

- BLAUSTEIN, E.H. Anti-pollution lab., New York, Sentinel Books Pub. Inc., 1973.
- CENTRE NATIONAL DE PREVENTION ET DE PROTECTION (CNPP) Mesures de securite dans l'emploi de produits chimiques. Paris, Enterprise Moderne D'Edition, 1970.
- KATZ, M. ed. Methods of air sampling and analysis, 2nd. ed. USA, APHA, Intersociety Committee. Interdisciplinary Books & Periodicals, 1977.
- NATIONAL INSTITUTE OF OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (NIOSH) (Taylor, D.G. Coord.) NIOSH manual of analytical methods. Cincinnati, DHEW, USA. v. 1-7, 1977-1981.
- ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) Manual de bioseguridad en el laboratorio. Ginebra, OMS, 1983.
- ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. Riesgos del ambiente humano para la salud. Washington, 1976 (Publicação Científica No. 329).
- STEERE, N.V. Handbook of laboratory safety. 2nd. ed., Cleveland, CRC Press, 1971.
- US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Manual of analytical quality control of pesticides in human and environmental media. North Carolina, EPA, 1976.
- US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Analytical reference standards and supplemental data for pesticides and other organic compounds. North Carolina, EPA, 1960.
- US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Manual of analytical methods for the analysis of pesticides in humans and environmental samples. North Carolina, EPA, 1980.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Environmetnal Health
Criteria Series.

1. Mercury, 1976
2. Polychlorinated biphenyls and terphenyls, 1977
3. Lead, 1977
4. Oxides of nitrogen, 1977
5. Nitrates, nitrites and N-nitroso compounds, 1978
6. Principles and methods for evaluating the toxicity of chemicals. Part I, 1978
7. Photochemical oxidants, 1979
8. Sulfur oxides and suspended particulate matter, 1979
9. DDT and its derivatives, 1979
10. Carbon dissulfide, 1979
11. Mycotoxina, 1979
13. Carbon monoxide, 1980
15. Tin and organotin compounds, 1980
17. Manganese, 1981
18. Arsenic, 1981
19. Hydrogen sulfice, 1981
21. Chlorine and hydrogen chloride, 1982
24. Titanium, 1982
26. Styrene, 1983
27. Guidelines on studies in environmental epidemiology, 1983
28. Acrylonitrile, 1983
29. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 1984
31. Tetrachloroethylene, 1984.

Revisión técnica de la versión en español
Dra. Nilda A.G.G. de Fernicola

Edición
Ing. y M. en Ed. Fernando Rulfo V.