

revista del  
**Comité**  
**Científico** de la aecosan

**Nº 24**

agencia española de consumo, seguridad alimentaria y nutrición  
**agencia española de consumo, seguridad alimentaria y nutrición**  
agencia española de consumo, seguridad alimentaria y nutrición  
**agencia española de consumo, seguridad alimentaria y nutrición**  
agencia española de consumo, seguridad alimentaria y nutrición



MINISTERIO  
DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES  
E IGUALDAD

**aecosan**  
agencia española  
de consumo,  
seguridad alimentaria y nutrición



Revista del Comité Científico de la AECOSAN

Madrid, 2016



revista del  
**Comité**  
**Científico** de la aecosan

**Nº 24**

Nota: los informes que se incluyen a continuación son el resultado de las consultas que la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) y otras instituciones hacen al Comité Científico. Esta revista y sus informes se presentan conforme a normas de presentación y publicación

de bibliografía científica internacionalmente aceptadas. De ello se deriva, entre otras, la necesidad de abordar su estudio e interpretación desde la consideración ineludible de las citas bibliográficas referenciadas en el texto y enumeradas en el apartado "Referencias" que incluye al final de los infor-

mes. Lo contrario, además de dificultar su comprensión integral, pudiera llevar a extraer, conclusiones parciales o equivocadas, divergentes del informe en su conjunto.

### **Consejo Editorial Científico**

#### **Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición**

##### **Presidenta**

Guillermina Font Pérez

##### **Vicepresidenta**

Ascensión Marcos Sánchez

Elena Alonso Lebrero  
José Manuel Barat Baviera  
María Pilar Conchello Moreno  
Ramón Estruch Riba  
María Antonia Ferrús Pérez  
Susana Guix Arnau  
Arturo Hardisson de la Torre  
Ángeles Jos Gallego  
Amelia Marti del Moral  
Olga Martín Belloso  
María Aránzazu Martínez Caballero  
Alfredo Palop Gómez  
Gaspar Pérez Martínez  
José Luis Ríos Cañavate  
Gaspar Ros Berruezo  
Jesús Ángel Santos Buelga  
Jesús Simal Gándara  
Josep Antoni Tur Marí

##### **Secretario técnico**

Vicente Calderón Pascual

#### **Coordinadores de la edición**

##### **Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición**

Ricardo López Rodríguez

##### **Edita**

AECOSAN

Alcalá, 56. 28071. Madrid

Correo electrónico: [evaluacionriesgos@msssi.es](mailto:evaluacionriesgos@msssi.es)

#### **Sección de Consumo**

##### **Presidente**

Arturo Anadón Navarro

##### **Vicepresidenta**

Cecilia Díaz Méndez

Juan Arpio Santacruz  
Cristóbal Gómez Benito  
Marceliano Herrero Sinovas  
Manuel Izquierdo Carrasco  
Ana Belén Martín Diana,  
Soledad Muniategui Lorenzo  
María José Toro Nozal  
Germán Vicente Rodríguez

##### **Secretaría técnica**

Manuel Carbó Martínez (secretario)  
Miguel Ysa Valle  
Luis de la Fuente Ramírez  
Ana de Miguel Herrera

#### **Sección de Consumo**

Luis de la Fuente Ramírez

##### **Diseño y maquetación**

Montserrat Gómez

**NIPO: 690-16-003-8**

**ISSN: 2386-5342**

## Índice

Prólogo	9
<b>Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición</b>	
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre métodos histológicos para la diferenciación de preparados de carne y productos cárnicos	11
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) en relación a la alergia a <i>Anisakis</i>	23
<b>Sección de Consumo</b>	
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre el riesgo del uso de semillas de <i>Mucuna pruriens</i> en productos de artesanía	35
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre la seguridad de uso de los cigarrillos electrónicos	53



En este vigésimo cuarto número de la Revista del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición se publican los primeros dos informes de la Sección de Consumo del Comité Científico de la AECOSAN.

La protección de los consumidores y usuarios es un principio básico que obliga al Estado a asegurar los derechos y libertades de los ciudadanos en este ámbito. En este sentido la evaluación de riesgos que ha comenzado a realizar la Sección de Consumo del Comité Científico juega un papel determinante en la toma de decisiones para la protección contra los riesgos que puedan afectar a la salud o la seguridad de los consumidores.

Por otra parte, la labor evaluadora de la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico de la AECOSAN viene contribuyendo desde hace más de una década a que las medidas de gestión del riesgo se basen en la mejor evidencia científica.

Los científicos que han participado en el Comité Científico desde su creación han dedicado su esfuerzo desinteresado a la promoción de la seguridad alimentaria y de la nutrición saludable y a la protección de los consumidores. Por ello, sólo cabe agradecerse y estimularles a continuar colaborando con la AECOSAN. En representación de todos ellos cabe citar a los Presidentes del Comité y de sus Secciones, los doctores Palou, Farré, Martínez de Victoria, Font y Anadón que han contribuido de forma determinante al buen funcionamiento de este Órgano de Evaluación de Riesgos de la Agencia.

La Revista del Comité Científico de la AECOSAN contribuye a la transparencia mediante la difusión los informes de evaluación de riesgos. No es fácil asegurar la continuidad de un medio de difusión de información científica durante tanto tiempo y su éxito se debe a los miembros del Comité Científico y también a todos aquellos que han contribuido a su edición durante más de diez años. Nuestro agradecimiento a todos ellos.

José Javier Castrodeza Sanz  
*Presidente de la Agencia Española de Consumo,  
Seguridad Alimentaria y Nutrición*



# Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre métodos histológicos para la diferenciación de preparados de carne y productos cárnicos

## Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición

Elena Alonso Lebrero, José Manuel Barat Baviera, María Pilar Conchello Moreno, Ramón Estruch Riba, María Antonia Ferrús Pérez, Guillermina Font Pérez, Susana Guix Arnau, Arturo Hardisson de la Torre, Ángeles Jos Gallego, Ascensión Marcos Sánchez, Amelia Marti del Moral, Olga Martín Belloso, María Aránzazu Martínez Caballero, Alfredo Palop Gómez, Gaspar Pérez Martínez, José Luis Ríos Cañavate, Gaspar Ros Berrueto, Jesús Ángel Santos Buelga, Jesús Simal Gándara, Josep Antoni Tur Marí

## Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AECOSAN-2016-003

Documento aprobado por la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico en su sesión plenaria de 21 de septiembre de 2016

## Grupo de trabajo

Gaspar Ros Berrueto (Coordinador)

Jesús Ángel Santos Buelga (Coordinador)

José Manuel Barat Baviera

María Pilar Conchello Moreno

Jesús Simal Gándara

## Resumen

La distinción entre preparado de carne y producto cárnico se viene realizando mediante diferentes métodos histológicos.

La Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) ha revisado la información disponible sobre cinco métodos histológicos, sus protocolos de análisis y la bibliografía científica relevante y ha concluido que no se ha encontrado bibliografía científica que defina los criterios ni las características de los métodos analíticos adecuados para determinar la pérdida de las características histológicas de la carne fresca. Asimismo, hay métodos que no detallan criterios objetivos de categorización, dependen totalmente de la subjetividad del analista y son, por tanto, poco fiables. Algunos de los métodos permiten una cuantificación objetiva de los resultados y, aunque dependen de la experiencia de los analistas para la observación microscópica de las muestras, hay unos criterios de interpretación bien definidos. Sin embargo, no se proporciona la incertidumbre de los métodos ni se ha llevado a cabo una validación de los mismos de acuerdo con las directrices comúnmente aceptadas (por ejemplo, la Norma UNE-EN ISO/IEC 17025:2005).

A día de hoy, estos métodos de diferenciación histológica se consideran un buen punto de partida para establecer la transición de preparado de carne a producto cárnico, pero para poder determinar su validez es necesario seguir trabajando en la identificación de métodos robustos que permitan esta valoración y/o cuantificación de las modificaciones histológicas del músculo en su transformación a carne y posterior pérdida de su estructura, no solo con métodos micrográficos, sino con otros complementarios que marquen objetivamente la desnaturalización de la proteína de la carne.

## Palabras clave

Preparado de carne, producto cárnico, métodos histológicos.

## Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) on histological methods for differentiating between meat preparations and meat products

### Abstract

The distinction between meat preparation and meat product is carried out using different histological methods.

The Food Safety and Nutrition Section of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) has reviewed the information available about five histological methods, their analysis protocol and the relevant scientific literature. It has concluded that no scientific literature has been found that defines the criteria or characteristics of the appropriate analytical methods for determining the loss of histological characteristics of fresh meat. Likewise, there are methods that do not outline objective criteria for categorisation, they depend entirely on the subjectivity of the analyst and are therefore not very reliable. Some of the methods allow for objective quantification of the results and, although they depend on the experience of the analysts for the microscopic examination of the samples, there are well-defined interpretation criteria. However, the uncertainty of the methods is not provided, nor has a validation of them been carried out in accordance with the generally accepted guidelines (for example Standard UNE-EN ISO/IEC 17025:2005).

At present, these methods for histological differentiation are considered as a good starting point for establishing the transition from meat preparation to meat product. However, in order to determine their validity, it is necessary to continue to work to identify robust methods that allow for this assessment and/or quantification of the histological modifications of muscle in its transformation into meat and subsequent loss of structure, not only with micrographic methods, but rather with other complementary methods that objectively indicate the denaturation of meat protein.

### Key words

Meat preparation, meat product, histological methods.

## 1. Introducción

El Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004 (UE, 2004a), por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, establece, entre otras, las siguientes definiciones:

- Preparados de carne: la carne fresca, incluida la carne que ha sido troceada, a la que se han añadido productos alimenticios, condimentos o aditivos, o que ha sido sometida a transformaciones que no bastan para alterar la estructura interna de la fibra muscular ni, por lo tanto, para eliminar las características de la carne fresca.
- Productos cárnicos: los productos transformados resultantes de la transformación de la carne o de la nueva transformación de dichos productos transformados, de modo que la superficie de corte muestre que el producto ha dejado de poseer las características de la carne fresca.

Establecer esta diferenciación tiene una gran importancia puesto que, dependiendo del tipo de derivado cárnico, los criterios de higiene que se aplican o el uso de aditivos autorizados es muy diferente. En el caso concreto de los aditivos, la utilización de fofosfos (E338, E341, E343, E450-452) está limitada en los preparados de carne a *breakfast sausages*, jamón salado de navidad finlandés, *burger meat* con un contenido mínimo en vegetales y/o cereales del 4 %, mezclados con la carne, *Kasseler, Bräte, Surfleisch, toorvorst, šašlōkk, yahjupraad* y la de nitritos (E249-250) a lomo de cerdo adobado, pincho moruno, careta de cerdo adobada, costilla de cerdo adobada, *Kasseler, Bräte, Surfleisch, toorvorst, šašlōkk, ahjupraad, kielbasa surowa kielbasa biała, kielbasa surowa metka y tatar wołowy (danie tatarskie)*. Los nitratos (E251-252) no están autorizados en ningún preparado de carne. En los productos cárnicos, por su parte, tanto los fosfosfos como los nitritos están autorizados con carácter general y, en los productos cárnicos no tratados por calor también se pueden utilizar nitratos (UE. 2008).

La distinción entre preparado de carne y producto cárnico se viene haciendo por parte de las empresas del sector empleando varios métodos histológicos para establecer esta diferenciación y no se dispone actualmente de un criterio válido para aceptar los mismos.

Dado que la diferenciación puede tener como efecto un uso mayor de aditivos alimentarios y, por lo tanto, influir de manera notable en la exposición de los consumidores a los aditivos y en la seguridad alimentaria, es necesario conocer qué métodos histológicos de diferenciación son aceptables de manera que se disponga de unos criterios claros que permitan, tanto a las autoridades de control oficial como al sector productor, garantizar un uso adecuado de los aditivos alimentarios.

Por ello, se ha solicitado a la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) que valore los distintos métodos histológicos disponibles en España para la diferenciación de preparados de carne y productos cárnicos.

En este sentido, la AECOSAN ha solicitado a distintos laboratorios información sobre los métodos que utilizan para la diferenciación entre preparados de carne y productos cárnicos (Alkemi, S.A., Aquimisa, S.L., Histalim, Prehistol y Visavet), basados todos ellos en técnicas histológicas.

## 2. Definiciones, reglamentación y orientación sobre carne fresca y derivados cárnicos

El Reglamento (CE) N° 853/2004 establece en su anexo I las siguientes definiciones (UE, 2004a):

### 1. Carne

- 1.1 Carne: las partes comestibles de los animales a que se refieren los puntos 1.2 a 1.8, incluida la sangre.
- 1.2 Ungulados domésticos: los animales domésticos de las especies bovina (incluidas las especies *Bubalus* y *Bison*), porcina, ovina y caprina, así como los solípedos domésticos.
- 1.3 Aves de corral: las aves de cría, incluidas las aves que no se consideran domésticas pero que se crían como animales domésticos, con excepción de las ratites.
- 1.4 Lagomorfos: los conejos, liebres y roedores.
- 1.5 Caza silvestre: – los ungulados y lagomorfos silvestres, así como otros mamíferos terrestres que se cazan para el consumo humano y son considerados caza silvestre con arreglo a la legislación aplicable en el Estado miembro de que se trate, incluidos los mamíferos que viven en territorios cerrados en condiciones de libertad similares a las de los animales de caza silvestre, y – las aves silvestres cazadas para el consumo humano.
- 1.6 Caza de cría: las ratites de cría y los mamíferos terrestres de cría distintos de los mencionados en el punto 1.2.
- 1.7 Caza menor silvestre: las aves de caza silvestres y los lagomorfos que viven en libertad.
- 1.8 Caza mayor silvestre: los mamíferos terrestres salvajes que viven en libertad y que no entran en la definición de caza menor silvestre.
- 1.10 Carne fresca: la carne que no ha sido sometida a procesos de conservación distintos de la refrigeración, la congelación o la ultracongelación, incluida la carne envasada al vacío o envasada en atmósfera controlada.
- 1.13 Carne picada: la carne deshuesada que ha sido sometida a una operación de picado en trozos y que contiene menos de 1 % de sal.
- 1.14 Carne separada mecánicamente (CSM): el producto obtenido extrayendo la carne de los huesos carnosos después del deshuesado, o de las canales de las aves, por medios mecánicos que ocasionan la pérdida o alteración de la estructura de la fibra muscular.
- 1.15 Preparados de carne: la carne fresca, incluida la carne que ha sido troceada, a la que se han añadido productos alimenticios, condimentos o aditivos, o que ha sido sometida a transformaciones que no bastan para alterar la estructura interna de la fibra muscular ni, por lo tanto, para eliminar las características de la carne fresca.

### 7. Productos transformados

- 7.1 Productos cárnicos: los productos transformados resultantes de la transformación de la carne o de la nueva transformación de dichos productos transformados, de modo que la superficie de corte muestre que el producto ha dejado de poseer las características de la carne fresca.

<b>Tabla 1.</b> Definiciones recogidas en el Reglamento (CE) N° 853/2004	
Carne	Las partes comestibles de los animales a que se refieren los puntos 1.2 a 1.8, incluida la sangre.
Carne fresca	Carne que no ha sido sometida a procesos de conservación distintos de la refrigeración, la congelación o la ultracongelación, incluida la carne envasada al vacío o envasada en atmósfera controlada.
Carne picada	Carne deshuesada que ha sido sometida a una operación de picado en trozos y que contiene menos de 1 % de sal.
Carne separada mecánicamente (CSM)	El producto obtenido extrayendo la carne de los huesos carnosos después del deshuesado, o de las canales de las aves, por medios mecánicos que ocasionan la pérdida o alteración de la estructura de la fibra muscular.
Preparados de carne	Carne fresca, incluida la carne que ha sido troceada, a la que se han añadido productos alimenticios, condimentos o aditivos, o que ha sido sometida a transformaciones que no bastan para alterar la estructura interna de la fibra muscular ni, por lo tanto, para eliminar las características de la carne fresca.
Productos cárnicos	Productos transformados resultantes de la transformación de la carne o de la nueva transformación de dichos productos transformados, de modo que la superficie de corte muestre que el producto ha dejado de poseer las características de la carne fresca.

**Fuente:** (UE, 2004a).

Asimismo, la Comisión Europea ha publicado un documento de orientación sobre la puesta en práctica de ciertas disposiciones del Reglamento (CE) N° 853/2004 (CE, 2009). En el apartado 5.9 relativo a los preparados de carne y productos cárnicos se recogen sus definiciones (citadas anteriormente en este apartado) y se indica además que las definiciones de “transformación”, “productos sin transformar” y “productos transformados” se establecen en el artículo 2, apartado 1, letras m), n) y o) respectivamente, del Reglamento (CE) N° 852/2004 (UE, 2004b), y son aplicables a todos los productos alimenticios, incluida la carne (Tabla. 2).

<b>Tabla 2.</b> Definiciones recogidas en el Reglamento (CE) N° 852/2004	
Transformación	Cualquier acción que altere sustancialmente el producto inicial, incluido el tratamiento térmico, el ahumado, el curado, la maduración, el secado, el marinado, la extracción, la extrusión o una combinación de esos procedimientos.
Productos sin transformar	Los productos alimenticios que no hayan sido sometidos a una transformación, incluyendo los productos que se hayan dividido, partido, seccionado, rebanado, deshuesado, picado, pelado o desollado, triturado, cortado, limpiado, desgrasado, descascarillado, molido, refrigerado, congelado, ultracongelado o descongelado.
Productos transformados	Los productos alimenticios obtenidos de la transformación de productos sin transformar. Estos productos pueden contener ingredientes que sean necesarios para su elaboración o para conferirles unas características específicas.

**Fuente:** (UE, 2004b).

El documento indica además que todos los productos cárnicos se incluyen en la definición de “productos transformados”. No obstante, los preparados de carne pueden incluirse en la definición de “productos sin transformar” o en la de “productos transformados”. Por ejemplo, un preparado de carne se incluirá en la definición de “productos transformados” si las acciones mencionadas en la definición de «transformación» que se aplican no bastan para alterar completamente la estructura interna de la fibra muscular de la carne y si la superficie de corte muestra que el producto presenta las características de la carne fresca.

Las definiciones de “preparados de carne” y “productos cárnicos” (entre otras definiciones del Reglamento (CE) N° 853/2004, (UE, 2004a)) son deliberadamente amplias dado el carácter innovador de la tecnología de la carne. Sin embargo, es necesario que los productos se incluyan en una definición concreta y que se elaboren con arreglo a los requisitos de higiene pertinentes. Además, las normas sobre criterios de comercialización, aditivos y etiquetado hacen referencia a dichas definiciones y, por lo tanto, la armonización de su aplicación resulta imprescindible.

Los productos pueden comercializarse antes de que la transformación dé como resultado una alteración completa de la carne/la estructura interna de la fibra muscular. En tales casos, el grado en el que hayan desaparecido las características de la carne fresca en el momento en el que se comercialice un producto determinará la definición en la que se incluye. Si las características de la carne fresca no desaparecen completamente, se considerará que el producto se incluye en la definición de “preparados de carne”. Si, por el contrario, las características de la carne fresca desaparecen completamente, se considerará que se incluye en la definición de “productos cárnicos”.

Por lo tanto, pueden hacerse las siguientes aclaraciones:

- La carne que ha sido troceada incluye la carne picada. Por consiguiente, la carne picada a la que se han añadido productos alimenticios, condimentos o aditivos entra dentro de la definición de preparados de carne.
- La carne fresca que haya sido marinada completamente hasta el centro se incluye en la definición de «productos cárnicos», ya que la definición de “transformación” incluye el marinado y este proceso produce la desnaturalización de las proteínas de la fibra muscular, lo que consti-

tuye una alteración de la estructura interna de la fibra muscular y la eliminación de las características de la carne fresca en la superficie del corte.

- La carne fresca que no haya sido marinada completamente hasta el centro se incluye en la definición de “preparados de carne”, ya que la alteración de la estructura interna de la fibra muscular no es completa y la superficie del corte todavía presenta las características de la carne fresca.
- La carne salada o curada, incluso completamente, que se comercialice en la fase inicial del proceso de maduración, y que no haya estado sometida a ninguna otra transformación, por ejemplo de cocinado o secado, se incluye en la definición de “preparados de carne”, ya que conserva las características de la carne fresca. Cuando el producto se somete a nuevas transformaciones, como el secado, cuyo resultado es la eliminación de las características de la carne fresca, se incluirá en la definición de “productos cárnicos”.
- La carne sometida a fritura rápida, que se queda cruda en el centro, se incluye en la definición de “preparados de carne”, ya que el proceso térmico no ha sido suficiente para alterar la estructura interna de la fibra muscular de la carne y eliminar completamente las características de la carne fresca. En consecuencia, la superficie de corte presenta todavía las características de la carne fresca.
- La carne sometida a una fritura rápida marinada hasta el centro o completamente curada antes de freírse se incluye en la definición de “productos cárnicos”, ya que el proceso de marinado o de salazón completo ha eliminado las características de la carne fresca.
- La carne que ha sido completamente frita, pero que debe cocinarse antes del consumo, se incluye en la definición de “productos cárnicos”, ya que la fritura ha alterado la estructura interna de la fibra muscular de la carne hasta el punto de hacer desaparecer las características de la carne fresca y la superficie de corte ya no presenta las características de la carne fresca.

<b>Tabla 3. Resumen de las aclaraciones</b>		
<b>Carne fresca</b>		
La carne que ha sido troceada incluyendo la carne picada	Carne picada a la que se han añadido productos alimenticios, condimentos o aditivos.	Preparados de carne
<b>Marinados</b>		
La carne fresca que haya sido marinada completamente hasta el centro	La definición de “transformación” incluye el marinado y este proceso produce la desnaturalización de las proteínas de la fibra muscular, lo que constituye una alteración de la estructura interna de la fibra muscular y la eliminación de las características de la carne fresca en la superficie del corte.	Productos cárnicos
La carne fresca que no haya sido marinada completamente hasta el centro	La alteración de la estructura interna de la fibra muscular no es completa y la superficie del corte todavía presenta las características de la carne fresca.	Preparados de carne
<b>Salada o curada</b>		
La carne salada o curada, incluso completamente,	que se comercialice en la fase inicial del proceso de maduración, y que no haya estado sometida a ninguna otra transformación, por ejemplo de cocinado o secado, se incluye en la definición de “preparados de carne”, ya que conserva las características de la carne fresca.	Preparados de carne
	Cuando el producto se somete a nuevas transformaciones, como el secado, cuyo resultado es la eliminación de las características de la carne fresca, se incluirá en la definición de “productos cárnicos”.	Productos cárnicos
<b>Fritura</b>		
La carne sometida a fritura rápida, que se queda cruda en el centro	El proceso térmico no ha sido suficiente para alterar la estructura interna de la fibra muscular de la carne y eliminar completamente las características de la carne fresca. En consecuencia, la superficie de corte presenta todavía las características de la carne fresca.	Preparados de carne

<b>Tabla 3. Resumen de las aclaraciones</b>		
<b>Fritura</b>		
La carne sometida a una fritura rápida marinada hasta el centro o completamente curada antes de freírse	El proceso de marinado o de salazón completo ha eliminado las características de la carne fresca.	Productos cárnicos
La carne que ha sido completamente frita, pero que debe cocinarse antes del consumo	La fritura ha alterado la estructura interna de la fibra muscular de la carne hasta el punto de hacer desaparecer las características de la carne fresca y la superficie de corte ya no presenta las características de la carne fresca.	Productos cárnicos

Por otro lado, la AECOSAN ha publicado una nota interpretativa sobre el uso de aditivos en derivados cárnicos (AECOSAN, 2015), en cuyo punto 4 se indica que los derivados cárnicos no sometidos a tratamientos son aquellos que han sido elaborados con carne fresca, incluida la carne que ha sido troceada o picada, a la que se han añadido otros productos alimenticios, condimentos o aditivos. Pertenecen a este grupo, entre otros y sin carácter limitativo, la longaniza, la salchicha, la butifarra y el chorizo frescos.

Este tipo de derivados cárnicos no lleva tratamiento, por lo que no existe una transformación, lo que los clasifica como “preparados de carne”.

Esta consideración como “preparados de carne” debe extenderse a todos aquellos derivados cárnicos que empleen el término “fresco” en su denominación, ya que por definición los “productos cárnicos” muestran en la superficie de corte que el producto ha dejado de poseer las características de la carne fresca.

Por lo tanto, productos como chorizo fresco, chistorra fresca, salchicha fresca, longaniza fresca, butifarra fresca, etc., son “preparados de carne” y únicamente podrán incorporar en su composición aditivos del grupo 8.2 (preparados de carne).

El etiquetado de estos derivados cárnicos deberá incluir las indicaciones del fabricante en cuanto a temperatura de conservación durante la comercialización del producto para garantizar su mantenimiento como producto fresco durante la vida útil del mismo, así como las indicaciones en cuanto a manipulación del producto y recomendaciones de consumo (por ejemplo, no consumir crudo, consumir completamente cocinado, etc.). Estas indicaciones se deben respetar hasta que el producto es adquirido por el consumidor.

### **3. Consideraciones sobre los métodos analíticos**

Los métodos analíticos tienen que ser apropiados al ensayo que se realiza. Preferentemente se deben utilizar métodos publicados como normas (internacionales, nacionales, regionales). Los métodos no normalizados (desarrollados por el propio laboratorio) deben ser previamente validados (es decir, confirmar, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, que se cumplen los

requisitos particulares para un uso específico previsto). Para la validación es conveniente utilizar una o varias de las técnicas siguientes (ISO/IEC, 2005):

- Calibración usando materiales de referencia.
- Comparación con resultados obtenidos con otros métodos.
- Comparación interlaboratorios.
- Evaluación sistemática de los factores que influyen en el resultado.
- Evaluación de la incertidumbre del resultado.

Es necesario disponer de un método de análisis basado en la determinación de las características histológicas del derivado cárnico para poder determinar si se ha alterado la estructura interna de la fibra muscular y, por tanto, se han eliminado las características de la carne fresca (UE, 2004a).

Para que el método analítico sea interpretable por todas las partes interesadas (laboratorio de análisis, cliente, administración, control oficial) tendría que asignar valores cuantitativos a las muestras, estableciendo umbrales que permitan categorizar los derivados cárnicos y la incertidumbre de las mediciones. Además podría incluir límites de repetibilidad/reproducibilidad, robustez frente a influencias externas (por ejemplo en el caso de muestras congeladas), así como otros valores comúnmente empleados en la validación de métodos analíticos.

En el Reglamento (CE) N° 853/2004 (UE, 2004a) no se indica en qué momento se considera que se ha alterado completamente la estructura interna de la fibra muscular y se han eliminado las características de la carne fresca, por tanto los métodos pueden tener una flexibilidad en la interpretación de los resultados analíticos, pero esta flexibilidad tiene que estar claramente fijada en las especificaciones del método, es decir, tiene que haber unos valores objetivos y unos intervalos de confianza que permitan diferenciar con claridad entre las distintas categorías de derivados cárnicos.

## Conclusiones del Comité Científico

De la revisión de la información disponible sobre los cinco métodos evaluados, de los protocolos de estos métodos histológicos de análisis existentes y de la bibliografía científica relevante se concluye lo siguiente:

- No se ha encontrado bibliografía científica que defina los criterios ni las características de los métodos analíticos adecuados para determinar la pérdida de las características histológicas de la carne fresca.
- Los métodos analíticos que se ofrecen a las industrias cárnicas realizan un análisis microscópico de muestras del derivado cárnico. La pérdida de estriación y la degeneración celular se consideran en general los parámetros más adecuados para estimar la desaparición de las características de la carne fresca, lo que es consistente con la exigencia del Reglamento (CE) N° 853/2004 (UE, 2004a).
- Para considerar que el producto ha dejado de poseer las características de la carne fresca (producto cárnico) tiene que haber alteración total o completa en toda la superficie de corte. Si esto no es así solo podremos hablar de que existe una alteración sustancial, por lo que se

trataría de un preparado de carne transformado. La aplicación de factores de corrección no justificados en la validación del método para estimar la alteración total (por ejemplo, 75 %) no sería compatible con la definición de producto cárnico.

- Hay métodos que no detallan criterios objetivos de categorización, dependen totalmente de la subjetividad del analista y son, por tanto, poco fiables.
- Algunos de los métodos permiten una cuantificación objetiva de los resultados y, aunque dependen de la experiencia de los analistas para la observación microscópica de las muestras, hay unos criterios de interpretación bien definidos. Sin embargo, no se aclara la incertidumbre de los métodos ni se ha llevado a cabo una validación de los mismos, de acuerdo con las directrices comúnmente aceptadas (por ejemplo, la Norma UNE-EN ISO/IEC 17025:2005; ISO/IEC, 2005).
- Existen derivados cárnicos que pueden modificar sus características durante el período de vida útil. Por ejemplo, se observa que los chorizos frescos son difíciles de categorizar, incluso empleando parámetros objetivos. Algunas muestras se consideran preparados de carne y otros productos cárnicos. Dado que las guías de interpretación consideran como preparados a los derivados que llevan el adjetivo “fresco” las empresas tendrían que ser conscientes de estas posibles modificaciones y cuidadosas con los términos que se utilizan en el etiquetado de estos alimentos.
- A día de hoy, estos métodos de diferenciación histológica se consideran un buen punto de partida para establecer la transición de preparado de carne a producto cárnico, pero para poder determinar su validez es necesario seguir trabajando en la identificación de métodos robustos que permitan esta valoración y/o cuantificación de las modificaciones histológicas del músculo en su transformación a carne y posterior pérdida de su estructura, no solo con métodos micrográficos, sino con otros complementarios que marquen objetivamente la desnaturalización de la proteína de la carne.

## Referencias

- AECOSAN (2015). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Nota interpretativa. Uso de aditivos en derivados cárnicos (Rev. 2). Disponible en: [http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad\\_alimentaria/detalle/riesgos\\_quimicos.htm](http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/detalle/riesgos_quimicos.htm) [acceso: 1-09-16].
- CE (2009). Comisión Europea. Guidance document on the implementation of certain provisions of Regulation (EC) No 853/2004 on the hygiene of food of animal origin. SANCO/10098/2009 Rev. 3. Disponible en: [http://ec.europa.eu/food/safety/biosafety/food\\_hygiene/guidance/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/safety/biosafety/food_hygiene/guidance/index_en.htm) [acceso: 1-09-16].
- ISO/IEC (2005). Norma UNE-EN ISO/IEC 17025:2005. Evaluación de la conformidad. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
- UE (2004a). Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DO L 139 de 30 de abril de 2004, pp: 55.
- UE (2004b). Reglamento (CE) N° 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004 relativo a la higiene de los productos alimenticios. DO L 139 de 30 de abril de 2004, pp: 1-54.
- UE (2008). Reglamento (CE) N° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008 sobre aditivos alimentarios. DO L 354 de 31 de diciembre de 2008, p: 16.



# Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) en relación a la alergia a *Anisakis*

## Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición

Elena Alonso Lebrero, José Manuel Barat Baviera, María Pilar Conchello Moreno, Ramón Estruch Riba, María Antonia Ferrús Pérez, Guillermina Font Pérez, Susana Guix Arnau, Arturo Hardisson de la Torre, Ángeles Jos Gallego, Ascensión Marcos Sánchez, Amelia Marti del Moral, Olga Martín Belloso, María Aránzazu Martínez Caballero, Alfredo Palop Gómez, Gaspar Pérez Martínez, José Luis Ríos Cañavate, Gaspar Ros Berrueto, Jesús Ángel Santos Buelga, Jesús Simal Gándara, Josep Antoni Tur Marí

## Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AECOSAN-2016-004

Documento aprobado por la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico en su sesión plenaria de 21 de septiembre de 2016

## Grupo de trabajo

Elena Alonso Lebrero (Coordidora)  
Susana Guix Arnau  
Alfredo Palop Gómez  
Gaspar Ros Berrueto  
Jesús Ángel Santos Buelga

## Resumen

La anisakiosis y la alergia a *Anisakis* son un problema sanitario especialmente importante en países que, como España, tienen un elevado consumo de pescado. La alergia a *Anisakis* puede producir manifestaciones de reacción alérgica (hipersensibilidad) de tipo inmediato que van desde la urticaria o angioedema al choque anafiláctico, así como cuadros mixtos con manifestaciones clínicas gastrointestinales y alérgicas.

En los últimos años se han producido avances en el conocimiento científico en esta materia, en relación a la alergenidad del parásito muerto y a la posible aparición de clínica en relación a la ingestión del pescado tratado según las normas recomendadas, lo que representaría un peligro para los alérgicos. Por todo ello se ha solicitado a la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) que se revise y valore la información disponible actualmente sobre alergia a *Anisakis*.

La bibliografía científica publicada hasta la fecha de elaboración de este informe, y consultada al efecto para redactarlo, no muestra evidencias clínicas actuales que permitan afirmar que el parásito muerto represente un peligro para los consumidores alérgicos a *Anisakis*.

Sin embargo, el reconocimiento inmunológico de diversos antígenos termoestables, demostrado aun después de aplicar los métodos de procesamiento recomendados, no permite descartar totalmente que pueda existir riesgo de reacción alérgica en algunas personas sensibilizadas a éstos.

## Palabras clave

Alérgenos, alergia alimentaria, *Anisakis*, anisakiosis, parasitosis, pescado, prevención.

## Report from the Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) on allergy to *Anisakis*

### Abstract

Anisakiasis and allergy to *Anisakis* are a particularly significant health concern in countries such as Spain with a high level of fish consumption. Allergy to *Anisakis* may produce immediate signs of allergic reaction (hypersensitivity) ranging from urticaria or angioedema to anaphylactic shock, and mixed symptoms with gastrointestinal and allergic clinical manifestations.

In recent years, progress has been made in the scientific knowledge in this area, in relation to the allergen potential of the dead parasite and the possible clinical appearance with respect to the intake of fish treated in accordance with recommended standards, implying a risk for allergic individuals. Consequently, the Food Safety and Nutrition Section of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) has been asked to review and assess the currently available information on allergy to *Anisakis*.

The scientific bibliography published up to the date of publication of this report, and consulted in order to write the report, does not show current clinical evidence to confirm that the dead parasite is a health concern for consumers who are allergic to *Anisakis*.

Nevertheless, the immunological recognition of different thermostable antigens, demonstrated even after applying the recommended methods of treatment, does not permit the total rejection of the possibility of risk of allergic reaction in those individuals who are sensitive to these.

### Key words

Allergens, food allergy, *Anisakis*, anisakiasis, parasitosis, fish, prevention.

## 1. Introducción

La anisakiosis y la alergia a *Anisakis* son un problema sanitario especialmente importante en países que, como España, tienen un elevado consumo de pescado. La alergia a *Anisakis* puede producir manifestaciones de reacción alérgica (hipersensibilidad) de tipo inmediato que van desde la urticaria o angioedema al choque anafiláctico, así como cuadros mixtos con manifestaciones clínicas gastrointestinales y alérgicas. En 2005 el Comité Científico emitió un informe en relación a los factores favorecedores de la aparición de alergia a *Anisakis* y las medidas de prevención aplicables para garantizar la muerte del parásito antes del consumo de pescado (AECOSAN, 2005).

Desde entonces se han producido avances en el conocimiento científico en esta materia, en relación a la alergenicidad del parásito muerto y a la posible aparición de clínica en relación a la ingestión del pescado tratado según las normas recomendadas, lo que representaría un peligro para los alérgicos. Por todo ello se ha solicitado a la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) que se revise y valore la información disponible actualmente sobre alergia a *Anisakis*.

### 1.1 Antecedentes

En 2005 el Comité Científico de la AECOSAN emitió un informe en relación a los factores favorecedores de la aparición de alergia a *Anisakis* y las medidas de prevención aplicables (AECOSAN, 2005). En 2006 se publicó el Real Decreto 1420/2006, de 1 de diciembre, sobre prevención de la parasitosis por *Anisakis* en productos de la pesca suministrados por establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades (BOE, 2006). Posteriormente a través de otro informe del Comité Científico y centrándose sobre medidas para reducir el riesgo asociado a la presencia de *Anisakis* (AECOSAN, 2007) se difundieron indicaciones acerca de los tratamientos térmicos más seguros a los que se debe someter el pescado destinado a ser consumido cocinado o en preparados crudos.

En este último documento se proporcionan unas recomendaciones destinadas tanto al consumidor como a la restauración colectiva en relación al tratamiento térmico del pescado destinado a consumirse cocinado y al que se consumiría crudo. Estas recomendaciones, que están basadas en la aceptación de la no alergenicidad de las larvas muertas del parásito se describen a continuación:

#### 1. Respecto al pescado consumido cocinado

Se consideran seguros desde el punto de vista de la inactivación del parásito los productos cocinados completamente, es decir, hervidos y fritos, dado que en tales tratamientos se alcanzan temperaturas superiores a los 90 °C y 170 °C, respectivamente.

Se proporcionan pautas para aumentar la seguridad del pescado cocinado a la plancha, que incluyen normas como considerar “pescado bien hecho” cuando se verifique que “la carne se separa sin dificultad de la espina” y que posee un “aspecto mate típico de las proteínas coaguladas”. Respecto a otro tipo de cocinado se incluyen recomendaciones para cocción en microondas, recomendándose voltear la pieza y dejar reposar tapado 2 minutos para garantizar condiciones térmicas adecuadas. Si no se cumplieran estas condiciones se recomienda someter a congelación previa.

## 2. Respecto al pescado consumido sin cocinar

**Congelación:** La normativa establece que los productos de la pesca que vayan a ser consumidos crudos o prácticamente crudos deberán congelarse a una temperatura igual o inferior a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  alcanzada en la totalidad del producto, no solo en superficie, durante un período de, al menos, 24 horas o a  $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante un periodo mínimo de 15 horas. Se recomienda congelar los pescados marinados y escabechados y pescados salados si la concentración de sal no alcanza un nivel del 9 % mantenido durante 6 semanas. Este tratamiento es también obligatorio para procedimientos de cocinado en los que la temperatura en el interior de la pieza no sobrepasa los  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , como los productos ahumados en frío.

Todas estas medidas se han venido considerando seguras para la destrucción de la larva viva, que se ha considerado hasta el momento es la única que puede causar síntomas en individuos alérgicos a *Anisakis*. Sin embargo desde la implantación de estas medidas se han producido tanto notificaciones de reacciones alérgicas como nuevos avances en el reconocimiento inmunológico de antígenos del *Anisakis*, incluso muerto, por lo que cabe preguntarse si estas recomendaciones son suficientes para garantizar la seguridad del consumidor.

## 2. Avances en el conocimiento de la antigenicidad del *Anisakis*

Actualmente, y dentro de la práctica clínica habitual, se acepta que resulta necesaria la infección activa, por larva viva, para que se desencadene una reacción alérgica. Por tanto, se asume que los tratamientos térmicos que se indican siguiendo las pautas proporcionadas por el Comité Científico de la AECOSAN (2007) y las recomendaciones europeas (UE, 2004) (EFSA, 2010) resultan seguros. Esta presunción se basa y se confirma por los trabajos experimentales de los autores que han comprobado que pacientes sensibilizados y con clínica anterior, y sobre los que se realizó prueba de exposición controlada, presentaron tolerancia a la ingestión de parásitos previamente congelados (Alonso et al., 1998) (López Serrano et al., 2000) (Alonso-Gómez et al., 2004), larvas muertas liofilizadas (Sastre et al., 2000) o antígeno excretor secretor (Baeza et al., 2004). Es de destacar que en estos estudios se realizó un seguimiento clínico posterior de los pacientes, durante periodos largos de meses o años, y que durante éste los pacientes continuaban con dieta, con el pescado tratado según recomendaciones estándar de evitación de riesgo, sin que presentaran síntomas.

Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que solo el parásito vivo sería capaz de provocar la clínica, o lo que es lo mismo, que los alérgenos de *Anisakis simplex* sólo interactúan con el sistema inmune del hospedador cuando el parásito los inocula en sus tejidos (Alonso-Gómez et al., 2004) por lo que resulta necesaria la ingestión de la larva viable para desencadenar una reacción alérgica. Del mismo modo, en estudios experimentales con ratas inoculadas con larvas vivas y larvas muertas de *Anisakis*, solamente se observó un aumento de la reactividad, medida por parámetros inmunológicos IgM e IgE, en los animales inoculados con larvas vivas (Abe y Teramoto, 2014).

Sin embargo, otros autores han descrito que algunos individuos refieren haber sufrido síntomas con alimentos congelados, enlatados o cocinados según las normas indicadas oficialmente (Alonso et al., 1997) (Audicana, 2001) (Audicana et al., 2002) (Falcão et al., 2002) (Caballero y Moneo, 2004) (Moneo et al., 2005) (Armentia et al., 2006) (Moneo et al., 2007). De ser esto cierto, algunos antígenos

nos termoestables procedentes de larvas muertas, o incluso también alérgenos resistentes a la digestión por proteasas gástricas, podrían ser capaces de provocar manifestaciones alérgicas en individuos sensibilizados previamente.

Estas discrepancias entre las dos hipótesis, podrían justificarse por varias causas:

- El reconocimiento por algunos de estos pacientes de antígenos resistentes al tratamiento térmico. Es posible que existan diferentes tipos de pacientes alérgicos que podrían reconocer diferentes antígenos incluso procedentes de larva muerta, lo cual podría hacer necesario recomendar diferentes medidas dietéticas, en función de las características de las proteínas a las que estén sensibilizados.
- La permanencia de larvas activas aun utilizando las medidas recomendadas.
- Baja adherencia a las recomendaciones.

## 2.1 Antígenos de elevada resistencia

Actualmente se han caracterizado hasta 28 alérgenos para *Anisakis simplex* (Arcos et al., 2014). Algunos de estos alérgenos presentan una elevada resistencia tanto a distintos rangos de temperatura, como a la degradación por proteasas, lo cual hace pensar que la infección con larva viva no sería imprescindible para causar sintomatología (Solas et al., 2008). A partir de los datos de reconocimiento de dichos antígenos por el suero de pacientes se extrapola que el reconocimiento podría justificar la sintomatología que se presenta en algunos casos.

Por otro lado, la exposición a determinados alérgenos de *Anisakis simplex* también podría ocurrir por consumo de algunas zonas de pescado que contuvieran antígenos secretores pero en las cuales la larva intacta ya no estuviera presente, bien por haber sido eliminada, o por consumirse partes no habitualmente parasitadas desechando las más afectadas (Audicana y Kennedy, 2008).

La mayoría de los estudios publicados recientemente se centran en la descripción y caracterización de alérgenos resistentes térmicamente, empleando sueros de pacientes sensibilizados (Caballero y Moneo, 2004) (Caballero et al., 2008). Se trata de estudios fundamentalmente *in vitro* en los que se han incluido sueros de pacientes que refieren, hasta en un 20 % de los casos en algunas series, haber presentado síntomas con pescado procesado según las recomendaciones de evitación de riesgo (Moneo et al., 2007). Hasta un 30 % de los pacientes reconocieron alérgenos *in vitro* tras tratamiento térmico del producto. Estos alérgenos resistentes podrían explicar la aparición de síntomas tras la ingesta de pescado cocinado o en conserva.

Asimismo, se ha descrito la capacidad de antígenos termoestables para inducir una respuesta celular semejante a la de los antígenos sin tratar térmicamente (González-Muñoz et al., 2010). En otro trabajo de este mismo grupo, aceptando "a priori" la alergenidad de las proteínas termoestables, se ha desarrollado una técnica muy sensible para valorar cuantitativamente (hasta 1 ppm de Ani s4) la presencia de antígenos reconocidos por suero de pacientes, en pescados tratados mediante congelación (-20 °C durante 11 meses) y en pescado cocinado (Rodríguez-Mahillo et al., 2010).

Otros grupos de investigadores han identificado algunos de los alérgenos termoestables de *Anisakis*, que podrían tener interés de cara a ser usados como alérgenos recombinantes para mejorar

la especificidad del diagnóstico, en los pacientes sensibilizados. Se describen así el Ani s5 (Caballero et al., 2011), Ani s7, Ani s9 (Kobayashi et al., 2007) (Rodríguez et al., 2008) (Rodríguez-Pérez et al., 2008), Ani s10 (Caballero et al., 2011), Ani s7 (Cuellar et al., 2012) (Fæste et al., 2014), Ani s13 (González-Fernández et al., 2015) y Ani s11 (Caballega-Sangiao et al., 2016).

Asimismo se ha determinado la presencia de alérgenos tras someter al pescado a condiciones semejantes a las correspondientes a la conservación enlatada, con diferentes grados de calor y tiempo, desde 90 °C durante 30 minutos, hasta 115 °C durante 90 minutos. Se obtuvo una disminución del reconocimiento de Ani s4 pero se confirmó que persistía antigenicidad residual (Tejada et al., 2015).

En otra publicación dentro de esta misma línea, tras aplicación de calentamiento en autoclave a 121 °C durante 20, 40, y 80 minutos (Caballega-Sangiao et al., 2014), se advierte que se conserva la capacidad de activación de basófilos aunque se reduce el número e intensidad de las bandas detectadas por *immunoblotting* en razón del tiempo de aplicación de calor, sobre todo durante 80 minutos. Así pues, los autores concluyen que algunos antígenos de *Anisakis simplex* mantienen su capacidad de unir IgE y de activar basófilos después de haber sido sometidos a métodos equivalentes a los de conservación y enlatado industrial y podrían representar un riesgo para pacientes sensibilizados.

Un aspecto diferente abordado en otras publicaciones sería la capacidad de las larvas muertas de producir una respuesta inmunológica en sujetos sensibilizados, valoradas en, este caso, mediante pruebas cutáneas de *prick-test* y parche (Ventura et al., 2008). Utilizando larvas muertas, cocinadas o congeladas, como antígenos para la realización de la prueba, un 70 % de los pacientes presentó un resultado positivo en la prueba cutánea en *prick*, sugiriendo que las larvas muertas pueden evocar una respuesta inmune. En la misma línea, con las pruebas epicutáneas o de parche el 37.5 % y el 12.5 % de los pacientes reconocieron respectivamente larvas congeladas y cocinadas.

Todas estas publicaciones abordan la alergenidad, con reconocimiento de proteínas termoestables del pescado tratado (Moneo et al., 2005) (Fæste et al., 2014) y medida únicamente como detección de alérgenos mayoritariamente *in vitro*, sin que esto suponga necesariamente correlación clínica.

## 2.2 Vitalidad de las larvas tras la aplicación al alimento de diferentes tratamientos térmicos

Algunos trabajos se han centrado en estudiar y confirmar si las recomendaciones actuales pueden considerarse seguras porque garanticen que se produzca la muerte del parásito.

Se ha observado viabilidad parcial de larvas tras congelación (Adams et al., 2005). Mientras que todas las larvas murieron sometiendo las piezas durante 96 horas a -15 °C, 60 horas a -20 °C, 12 horas a -30 °C y 9 horas a -40 °C, se encontró que tras 48 horas a -20 °C sobrevivían hasta un 30 % de las mismas, resultando más determinante el grosor de la pieza, que el tiempo mantenido a la temperatura de congelación alcanzada.

Usando técnicas de microscopía electrónica y fluorescencia, se ha examinado el efecto de algunos tratamientos térmicos sobre la estructura de las larvas (Tejada et al., 2006). Sometiendo

filetes de pescado parasitado artificialmente con una dosis de 40-60 larvas de *Anisakis simplex* a tratamientos de congelación (a -20 °C durante 44 h), calentamiento por inmersión en agua (a 95 °C durante 8 minutos) y cocción (3 minutos en microondas 900 W), se observaron cambios significativos en la cutícula de las larvas en las muestras cocinadas, así como en algunas de las muestras congeladas. No obstante, en estas últimas muestras también se identificaron parásitos que no habían sufrido ningún cambio estructural significativo (Tejada et al., 2006). Conocer si los cambios estructurales observados en la cutícula de las larvas pudieran modificar la resistencia de los parásitos a la acción de los enzimas gástricos requiere de estudios adicionales. En otro estudio se demostró que tras el calentamiento a 60 °C durante 10 minutos algunas larvas presentaban movimientos espontáneos, que no se observaban manteniendo temperaturas iguales y superiores a 70 °C durante un tiempo igual o superior a 1 minuto (Vidaček et al., 2010).

Estudios de inactivación de las larvas por microondas (Vidaček et al., 2011) han permitido comprobar que los tratamientos a 70 °C en microondas, inactivan las larvas con más rapidez que los procesos de cocción tradicionales, siempre y cuando se garantice que las microondas penetran completamente toda la pieza. No obstante, en este estudio también se detectó la presencia de alérgenos termoestables en el tejido muscular circundante a las larvas, sugiriendo que la larva muerta podría liberar alérgenos en tejidos circundantes, lo que puede suponer un riesgo para pacientes sensibilizados a alérgenos termorresistentes.

### 2.3 Baja adherencia a las recomendaciones

Otra posibilidad a valorar es que, en la vida cotidiana, exista una preparación insuficiente en tiempo o temperatura o bien se produzca una interpretación laxa de las recomendaciones basadas en apreciaciones subjetivas (“cambio de color”, “separación de la espina”, etc.), que pueden resultar insuficientemente precisas, y que motivan que el paciente ingiera larvas viables y sufra síntomas.

## 3. Discusión

Sin duda la alternativa más segura para el paciente que ha sufrido clínica de alergia a *Anisakis* es el mantenimiento de una dieta exenta de pescado.

Sin embargo, el tipo de restricciones dietéticas que se indique seguir a las personas alérgicas a *Anisakis*, es un aspecto que incide de forma importante en la vida cotidiana del paciente y en la de su entorno. La dieta exenta en pescado, o las recomendaciones excesivamente restrictivas en su preparación, pueden ser difíciles de cumplir en poblaciones que mantienen costumbres culinarias arraigadas y que incluyen, tanto el consumo frecuente de pescado, como formas de preparación con tratamiento térmico insuficientes para el control de la aparición de síntomas alérgicos. Por todo ello se han adoptado recomendaciones que se han considerado suficientes para lograr la muerte y consiguiente inocuidad del parásito (UE, 2004) (AECOSAN, 2005, 2007) pero permiten el consumo de pescado en condiciones que resulten organolépticamente aceptables para el consumidor.

Actualmente, mientras la posible exposición al parásito se incrementa debido al aumento de la ingestión del pescado por razones dietéticas, nutricionales y de cambio de costumbres gastronómi-

cas, la inmunología de la infestación y de la sensibilización alérgica a *Anisakis* está siendo objeto de nuevos estudios.

En el momento actual, el conocimiento, descripción y caracterización *in vitro* de antígenos de elevada resistencia se encuentra más desarrollado que los estudios clínicos, con prueba de exposición controlada mediante ingesta, que se corresponderían con la misma situación de termoestabilidad. La evidencia clínica de que la exposición a antígenos termoestables provoca síntomas no se ha visto, hasta el momento, demostrada experimentalmente en pacientes. Solo se podría aumentar el conocimiento sobre este problema, mediante la realización de más estudios clínicos que incluyan pruebas de exposición controlada con alérgenos termoestables, en aquellos pacientes que han referido síntomas con pescado procesado adecuadamente para que se considere libre de larva viva. Es decir, hasta el momento, están descritas sensibilizaciones a múltiples alérgenos (reconocimiento inmunológico del alérgeno) pero eso no necesariamente implica que exista alergia clínica. Esta diferencia, que está claramente establecida, y es aplicable tanto para inhalantes, como para alimentos, o para cualquier alérgeno potencial, entre lo que es la sensibilización sin síntomas y la alergia, es la base del diagnóstico clínico preciso en cualquier trastorno alérgico.

Además, algunos enfoques recientes (Daschner et al., 2012) orientan el debate desde un punto de vista distinto, resaltando el hecho de que la patología alérgica provocada por *Anisakis* no sigue el mismo patrón que el equivalente a una alergia alimentaria. Así, en la alergia a alimentos clásica, el paciente presenta siempre síntomas tras la ingestión del alimento, con una intensidad que varía dependiendo de grado de sensibilización y de la cantidad ingerida.

En el caso de la parasitación por *Anisakis* la exposición al alérgeno depende de que el pescado consumido esté o no parasitado. En este último caso, la ingesta de un pescado no parasitado, aun con una cierta relajación en el seguimiento de normas, no provocaría síntomas y proporciona al paciente una falsa sensación de seguridad que puede disminuir el grado de adherencia a las recomendaciones. La ingesta de un pescado parasitado, cocinado en las mismas condiciones del que previamente fue tolerado, es decir con larvas viables, provocaría sin embargo sintomatología.

En esta línea argumental, algunos métodos recomendados previamente (AECOSAN, 2007) pueden resultar subjetivos, con un margen de interpretación, con indicaciones como que “la carne se separe sin dificultad de la espina” o “aspecto mate típico de las proteínas coaguladas” en cuanto a lo que se considera “pescado bien hecho” en relación a formas de cocinado a la plancha o en microondas.

## Conclusiones del Comité Científico

La bibliografía científica publicada hasta la fecha de elaboración de este informe, y consultada al efecto para redactarlo, no muestra evidencias clínicas actuales que permitan afirmar que el parásito muerto represente un peligro para los consumidores alérgicos a *Anisakis*.

Sin embargo, el reconocimiento inmunológico de diversos antígenos de elevada resistencia aún después de aplicar los métodos de procesados recomendados, no permite descartar totalmente que pueda existir riesgo de reacción alérgica en algunas personas sensibilizadas a éstos.

## Referencias

- Abe, N. y Teramoto, I. (2014). Oral inoculation of live or dead third-stage larvae of *Anisakis simplex* in rats suggests that only live larvae induce production of antibody specific to *Anisakis simplex*. *Acta Parasitológica*, 59 (1), pp: 184-188.
- Adams, A.M., Ton, M.N., Wekell, M.M., Mac Kenzie, A.P. y Dong, F.M.J. (2005). Survival of *Anisakis simplex* in arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*) during frozen storage. *Journal of Food Protection*, 68 (7), pp: 1441-1446.
- AECOSAN (2005). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. La alergia por *Anisakis* y medidas de prevención. *Revista del Comité Científico de la AECOSAN*, 1, pp: 19-35.
- AECOSAN (2007). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe sobre medidas para reducir el riesgo asociado a la presencia de *Anisakis*. *Revista del Comité Científico de la AECOSAN*, 6, pp: 59-65.
- Alonso, A., Daschner, A. y Moreno-Ancillo, A. (1997). Anaphylaxis with *Anisakis simplex* in gastric mucosa. *The New England Journal of Medicine*, 337, pp: 350-351.
- Alonso, A., Moreno-Ancillo, A., Daschner, A. y López-Serrano, M.C. (1998). Dietary assessment in five cases of allergic reactions due to gastroallergic anisakiasis. *Allergy*, 54 (5), pp: 517-520.
- Alonso-Gómez, A., Moreno-Ancillo, A., López-Serrano, M.C., Suárez de Parga, J.M., Daschner, A., Caballero, M.T., Barranco, P. y Cabañas, R. (2004). *Anisakis simplex* only provokes allergic symptoms when the worm parasitizes the gastrointestinal tract. *Journal of Parasitology Research*, 93 (5), pp: 378-384.
- Arcos, S.C., Ciordia, S., Roberston, L., Zapico, I., Jiménez-Ruiz, Y., Gonzalez-Muñoz, M., Moneo, I., Carballeda-Sangiao, N., Rodríguez-Mahillo, A., Albarrán J.P. y Navas, A. (2014). Proteomic profiling and characterization of differential allergens in the nematodes *anisakis simplex* sensu stricto and *a. pegreffii*. *Proteomics*, 21,14 (12), pp: 1547-1568.
- Armentia, A., Martín-Gil, F.J., Pascual, C., Martín-Esteban, M., Callejo, A. y Martínez, C. (2006). *Anisakis simplex* allergy after eating chicken meat. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 16, pp: 258-263.
- Audicana, M.T. (2001). Controversia en el diagnóstico de alergia a *Anisakis simplex*: Diagnóstico clínico y manejo. *Alergología e Inmunología Clínica*, 16, pp: 45-50.
- Audicana, M.T., Ansotegui, I.J., De Corres, L.F. y Kennedy, M.W. (2002). *Anisakis simplex*: dangerous-dead and alive? *Trends in Parasitology*, 18 (1), pp: 20-25.
- Audicana, M.T. y Kennedy, M.W. (2008) *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clinical Microbiology Reviews*, 21 (2), pp: 360-379.
- Baeza, M.L., Rodríguez, A., Matheu, V., Rubio, M., Tornero, P., De Barrio, M., Herrero, T., Santaolalla, M. y Zubeldia, J.M. (2004). Characterization of allergens secreted by *Anisakis simplex* parasite: clinical relevance in comparison with somatic allergens. *Clinical & Experimental Allergy Journal*, 34, pp: 296-302.
- BOE (2006). Real Decreto 1420/2006, de 1 de diciembre, sobre prevención de la parasitosis por *Anisakis* en productos de la pesca suministrados por establecimientos que sirven comidas a los consumidores finales o a colectividades. BOE 302 de 19 de diciembre de 2006, pp: 44547-44549.
- Caballero, M.L. y Moneo, I. (2004). Several allergens from *Anisakis simplex* are highly resistant to heat and pepsin treatments. *Journal of Parasitology Research*, 93 (3), pp: 248-251.
- Caballero, M.L., Moneo, I., Gómez-Aguado, F., Corcuera, M.T., Casado, I. y Rodríguez-Pérez, R. (2008). Isolation of Ani s5, an excretory-secretory and highly heat-resistant allergen useful for the diagnosis of *Anisakis larvae* sensitization. *Parasitology Research*, 103 (5), pp: 1231-1233.
- Caballero, M.L., Umpiérrez, A., Moneo, I. y Rodríguez-Pérez, R. (2011). Ani s10, a new *Anisakis simplex* allergen: cloning and heterologous expression. *Parasitology International*, 60 (2), pp: 209-212.
- Carballeda-Sangiao, N., Olivares, F., Rodríguez-Mahillo, A.I., Careche, M., Tejada, M., Moneo, I. y González-

- Muñoz, M.J. (2014). Identification of autoclave-resistant *Anisakis simplex* allergens. *Journal of Food Protection*, 77 (4), pp: 605-609.
- Carballeda-Sangiao, N., Rodríguez-Mahillo, A.I., Careche, M., Navas, A., Caballero, T., Domínguez-Ortega, J., Jurado-Palomo, J. y González-Muñoz, M. (2016). Ani s11-Like Protein Is a Pepsin- and Heat-Resistant Major Allergen of *Anisakis* spp. and a Valuable Tool for *Anisakis* Allergy Component-Resolved Diagnosis. *Allergy Immunology*, 169 (2), pp: 108-112.
- Cuellar, C., Daschner, A., Valls, A., De Frutos, C., Fernández-Figares, V., Anadón, A.M., Rodríguez, E., Gárate, T., Rodero, M. y Ubeira, F.M. (2012). Ani s1 and Ani s7 recombinant allergens are able to differentiate distinct *Anisakis simplex*-associated allergic clinical disorders. *Dermatology Research*, 304 (4), pp: 283-288.
- Daschner, A., Cuéllar, C. y Rodero, M. (2012). The *Anisakis* allergy debate: does an evolutionary approach help? *Trends in Parasitology*, 28 (1), pp: 9-15.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *The EFSA Journal*, 8 (4), pp: 1543-1634.
- Fæste, C.K., Jonscher, K.R., Dooper, M.M., Egge-Jacobsen, W., Moen, A., Daschner, A., Egaas, E. y Christians, U. (2014). Characterisation of potential novel allergens in the fish parasite *Anisakis simplex*. *EuPA Open Proteomics Journal*, 4, pp: 140-155.
- Falcão, H., Lunet, N., Neves, E. y Barros, H. (2002). Do only live larvae cause *Anisakis simplex* sensitization? *Allergy*, 57 (1), pp: 44.
- González-Fernández, J., Daschner, A., Nieuwenhuizen, N.E., Lopata, A.L., Frutos, C.D., Valls, A. y Cuéllar, C. (2015). *Anisakis* haemoglobin (Ani s13) a potential candidate for developing more specific diagnosis tools. *International Journal for Parasitology*, 45 (6), pp: 399-407.
- González-Muñoz, M., Rodríguez-Mahillo, A.I. y Moneo, I. (2010). Different Th1/Th2 responses to *Anisakis simplex* are related to distinct clinical manifestations in sensitized patients. *Parasite Immunology Journal*, 32 (1), pp: 67-73.
- Kobayashi, Y., Shimakura, K., Ishizaki, S., Nagashima, Y. y Shiomi, K. (2007). Purification and cDNA cloning of a new heat-stable allergen from *Anisakis simplex*. *Molecular Biochemical Parasitology*, 155 (2), pp: 138-145.
- López-Serrano, M.C., Alonso Gómez, A., Moreno-Ancillo, A., Daschner, A. y Suárez de Parga, J. (2000). Anisakiasis gastro-alérgica: Hipersensibilidad inmediata debido a parasitación por *Anisakis simplex*. *Alergología e Inmunología Clínica*, 15, pp: 230-236.
- Moneo, I., Caballero, M.L., González-Muñoz, M., Rodríguez-Mahillo, A.I., Rodríguez-Pérez, R. y Silva, A. (2005). Isolation of a heat-resistant allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *Journal of Parasitology Research*, 96 (5), pp: 285-289.
- Moneo, I., Caballero, M.L., Rodríguez-Pérez, R., Rodríguez-Mahillo, A.I. y González-Muñoz, M. (2007). Sensitization to the fish parasite *Anisakis simplex*: clinical and laboratory aspects. *Journal of Parasitology Research*, 101 (4), pp: 1051-1055.
- Rodríguez, E., Anadón, A.M., García-Bodas, E., Romarís, F., Iglesias, R., Gárate, T. y Ubeira, F.M. (2008). Novel sequences and epitopes of diagnostic value derived from the *Anisakis simplex* Ani s7 major allergen. *Allergy*, 63 (2), pp: 219-225.
- Rodríguez-Mahillo, A.I., González-Muñoz, M., De las Heras, C., Tejada, M. y Moneo, I. (2010). Quantification of *Anisakis simplex* allergens in fresh, long-term frozen, and cooked fish muscle. *Foodborne Pathogens Disease*, 7 (8), pp: 967-973.
- Rodríguez-Pérez, R., Moneo, I., Rodríguez-Mahillo, A. y Caballero, M.L. (2008). Cloning and expression of Ani s9, a new *Anisakis simplex* allergen. *Molecular Biochemical Parasitology*, 159 (2), pp: 92-97.
- Sastre, J., LLuch-Bernal, M., Quirce, S., Arrieta, I., Lahoz, C., Del Amo, A., Fernández-Caldas, E. y Marañón, F.A. (2000). Double-blind, placebo-controlled oral challenge study with lyophilized larvae and antigen of the fish parasite *Anisakis simplex*. *Allergy*, 55, pp: 560-564

- Solas, M.T., García, M.L., Rodríguez-Mahillo, A.I., González-Muñoz, M., De las Heras, C. y Tejada, M. (2008). *Anisakis* antigens detected in fish muscle infested with *Anisakis simplex* L3. *Journal of Food Protection*, 71 (6), pp: 1273-1276.
- Tejada, M., Solas, M.T, Navas, A. y Mendizábal, A. (2006). Scanning electron microscopy of *Anisakis* larvae following different treatments. *Journal of Food Protection*, 69 (6), pp: 1379-1387.
- Tejada, M., Olivares, F., De las Heras, C., Careche, M., Solas, M.T., García, M.L., Fernández, A., Mendizábal, A., Navas, A., Rodríguez-Mahillo, A.I. y González-Muñoz, M. (2015). Antigenicity of *Anisakis simplex* s.s. L3 in parasitized fish after heating conditions used in the canning processing. *Journal of Science, Food and Agriculture*, 95 (5), pp: 922-927.
- UE (2004). Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DOL 139 de 30 de abril de 2004. pp: 113-114.
- Ventura, M.T., Tummolo, R.A., Di Leo, E., D'Ersasmo, M. y Arsieni, A.J. (2008) Immediate and cell-mediated reactions in parasitic infections by *Anisakis simplex*. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 18 (4), pp: 253-259.
- Vidaček, S., De Las Heras, C., Solas, M.T., Mendizábal, A., Rodríguez-Mahillo, A.I. y Tejada, M.J. (2010). Antigenicity and viability of *Anisakis* larvae infesting hake heated at different time-temperature conditions. *Journal of Food Protection*, 73 (1), pp: 62-68.
- Vidaček, S., De Las Heras, C., Solas, M.T., García, M.L., Mendizábal, A. y Tejada, M.J. (2011). Viability and antigenicity of *Anisakis simplex* after conventional and microwave heating at fixed temperatures. *Journal of Food Protection*, 74 (12), pp: 2119-2126.



# Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre el riesgo del uso de semillas de *Mucuna pruriens* en productos de artesanía

## Sección de Consumo

Arturo Anadón Navarro (presidente), Juan Arpio Santacruz, Cecilia Díaz Méndez (vicepresidenta), Cristóbal Gómez Benito, Marceliano Herrero Sinovas, Manuel Izquierdo Carrasco, Ana Belén Martín Diana, Soledad Muniategui Lorenzo, María José Toro Nozal, Germán Vicente Rodríguez

## Secretaría técnica

Manuel Carbó Martínez (secretario), Miguel Ysa Valle, Luis de la Fuente Ramírez, Ana de Miguel Herrera

Número de referencia: AECOSAN-2016-005

Documento aprobado por la Sección de Consumo del Comité Científico en su sesión plenaria de 13 de julio de 2016

## Grupo de trabajo

Arturo Anadón Navarro (Coordinador)

Juan Arpio Santacruz

Cecilia Díaz Méndez

Manuel Izquierdo Carrasco

Ana Belén Martín Diana

María José Toro Nozal

## Resumen

El Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) ha evaluado el riesgo del uso de semillas de *Mucuna pruriens* en productos de artesanía. En este informe se describen sus distintos usos en dichos productos de artesanía y los usos divulgados por sus presuntas propiedades como planta medicinal, en alimentación humana, como antídoto en mordeduras de serpientes y como biomasa o cobertura vegetal. El contexto sociológico del empleo de *Mucuna pruriens* también se incluye en este informe. Igualmente se describen las características que identifican a *Mucuna pruriens* como especie vegetal, las propiedades farmacológicas y las propiedades toxicológicas descritas en estudios de toxicidad a dosis única y de toxicidad a dosis repetidas así como la evaluación del riesgo por ingesta accidental de sus semillas en productos de artesanía. Se concluye que el valor de la  $DL_{50}$  de *Mucuna pruriens* es superior a 2000 mg/kg p.c. y se puede identificar un NOEL de 70 mg/kg p.c./día ("dosis límite") a partir de un estudio de toxicidad dosis repetida en conejos. Se ha estimado un valor  $TD_{Lo}$  (*lowest published toxic dose, o toxic dose low*) (dosis tóxica más baja publicada o dosis tóxica mínima) de L-dopa (humanos) de 4286 mg/kg p.c. El margen de seguridad calculado para la semilla de *Mucuna pruriens* consumida es amplio en relación con la posible exposición tanto en adultos como en niños. Sin embargo, hay que considerar también el riesgo ocasionado por la exposición accidental de las semillas de *Mucuna pruriens* debido a que pueden originar una oclusión respiratoria o digestiva en los niños, lo que representa un riesgo adicional. El contacto con semillas de *Mucuna pruriens* puede provocar prurito intenso y alergia de contacto en todos los grupos poblacionales. Los niños y mujeres gestantes presentan sensibilidad a la ingesta de semilla de *Mucuna pruriens* debido al contenido y acción farmacológica de la L-dopa (levodopa).

## Palabras clave

*Mucuna pruriens*, usos, artesanía, seguridad, farmacología, toxicología, sociología.

## Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) on the risk of *Mucuna pruriens* in trinkets

### Abstract

The Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) has assessed the health risks associated with the use of *Mucuna pruriens* seeds in handicraft products. This report describes the different uses in said handicraft products and the uses of its alleged properties as medicinal plant, in human food, as an antidote for snake bites and as a biomass or vegetation cover. The sociological context of the use of *Mucuna pruriens* is also included in this report. Furthermore, the characteristics that identify *Mucuna pruriens* as a plant species are described along with the pharmacology properties and toxicology properties as described in toxicity studies of a single dose and of repeated doses as well as the risk evaluation of accidental ingestion of the seeds in handicraft products. It is concluded that the LD50 value of *Mucuna pruriens* is greater than 2000 mg/kg bw and the NOEL can be identified as 70 mg/kg bw/day (limit dose) drawn from a repeat dose toxicity study in rabbits. A value of TDLo (lowest published toxic dose, or toxic dose low) of L-dopa in humans has been estimated at 4286 mg/kg bw. The calculated security margin of the consumption of *Mucuna pruriens* seeds is broad in relation to the potential exposure in adults as well as children. However, the risk of accidental exposure to the *Mucuna pruriens* seeds should be considered as it could cause respiratory or digestive occlusion in children, which represents an additional risk. Coming into contact with *Mucuna pruriens* seeds could cause intense itching and contact allergy in all population groups. Children and pregnant women have a higher sensitivity to the ingestion of *Mucuna pruriens* seeds due to their content and the pharmacological action of the L-dopa (levadopa).

### Key words

*Mucuna pruriens*, uses, handicraft, safety, pharmacology, toxicology, sociology.

## Índice

1. Introducción
    - 1.1 Términos de referencia
  2. Usos conocidos
    - 2.1 Uso en artesanía
    - 2.2 Uso como planta medicinal
    - 2.3 Uso en alimentación humana
    - 2.4 Uso como antídoto en las mordeduras de serpiente
    - 2.5 Uso como biomasa o cobertura vegetal
    - 2.6 Contexto sociológico
  3. Clasificación botánica y caracterización del producto
    - 3.1 Composición
  4. Seguridad
    - 4.1 Datos farmacológicos de interés para la evaluación de la seguridad por consumo de semillas de *Mucuna pruriens*
    - 4.2 Toxicología
      - 4.2.1 Estudios de toxicidad aguda
      - 4.2.2 Estudios de toxicidad a dosis repetidas
      - 4.2.3 Toxicidad en humanos
  5. Evaluación de riesgos
    - 5.1 Evaluación del riesgo por ingesta
    - 5.2 Evaluación del riesgo por manipulación y uso de la semilla como producto de artesanía
- Conclusiones
- Recomendaciones
- Referencias

## 1. Introducción

El Comité Científico (Sección Consumo) de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) presenta este informe cuyo objetivo es emitir un dictamen científico que permita determinar si el uso de las semillas de *Mucuna pruriens* en productos de Artesanía presenta o no un riesgo para la salud de los consumidores-usuarios y en especial para la población infantil.

Se han consultado, entre otras muchas, las siguientes bases de datos explicitadas por su relevancia: PubMed-Medline, SciFinder, ScienceDirect, Web of Knowledge.

### 1.1 Términos de referencia

Este dictamen se emite a petición de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) y teniendo en cuenta el Deber General de Seguridad contemplado en la legislación

El art. 11 del Real Decreto Legislativo 1/2007, de 16 de noviembre, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley General para la Defensa de los Consumidores y Usuarios y otras leyes complementarias, establece que “los bienes... puestos en el mercado deben ser seguros”. A renglón seguido, define como seguros “los bienes... que, en condiciones de uso normales o razonablemente previsibles, incluida su duración, no presenten riesgo alguno para la salud o seguridad de las personas, o únicamente los riesgos mínimos compatibles con el uso del bien o servicio y considerados admisibles dentro de un nivel elevado de protección de la salud y seguridad de las personas”. Según el art. 2.c) del Real Decreto 1801/2003, de 26 de diciembre, sobre seguridad general de los productos, se considera riesgo “la posibilidad de que los consumidores y usuarios sufran un daño para su salud o seguridad, derivado de la utilización, consumo o presencia de un producto”.

Con estas premisas, lo que debe determinarse en la presente opinión es si los productos de artesanía que incorporan semillas de *Mucuna pruriens* son seguros así como también si la propia comercialización de esas semillas con esa finalidad es segura.

## 2. Usos conocidos

Este Comité Científico considera necesario realizar una breve descripción de los distintos usos descritos de las semillas de *Mucuna pruriens*.

Las propiedades beneficiosas que se describen en los distintos usos, son únicamente las presuntas propiedades descritas en la literatura científica revisada. Este Comité Científico cree necesario advertir, aunque dichas propiedades de *Mucuna pruriens* han sido publicadas, que este hecho no implica, en absoluto, que dichas propiedades estén científicamente validadas o reconocidas por las Agencias reguladoras oficiales, por la comunidad científica o por este Comité Científico de la AECOSAN.

En la fase de búsqueda de documentación e información para su análisis, este Comité Científico ha encontrado diversas páginas web en las que se comercializan preparados de *Mucuna pruriens*, en diversas concentraciones y presentaciones. Algunas de esas páginas web de acceso libre a través de internet corresponden a establecimientos con domicilio social en España; otras, en países

miembros de la Unión Europea; y otras, en países terceros, aunque también dirigidas al mercado español. Además, en todas ellas, dicha comercialización aparece acompañada de numerosas alegaciones nutricionales e incluso de propiedades saludables.

## 2.1 Uso en artesanía

Las semillas de *Mucuna pruriens* han sido empleadas en productos de artesanía para la confección de pulseras, collares, y abalorios entre otros (Benedetti, 2012). El uso de la semilla como producto de artesanía puede realizarse como producto final acabado o como producto para fabricación doméstica y a su vez puede encontrarse como producto final fabricado o como producto comercializado a granel sin ningún tratamiento térmico.

## 2.2 Uso como planta medicinal

Las semillas de *Mucuna pruriens* se han usado en la medicina tradicional para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. El polvo de las semillas de *Mucuna pruriens* contiene altas concentraciones de L-Dopa, precursor directo del neurotransmisor dopamina; se ha usado desde hace muchos años en la medicina tradicional ayurvedica de la India para tratar enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad del Parkinson (Manyam et al., 2004a,b). En gran cantidad (30 g/dosis) ha sido usada en el tratamiento de la enfermedad del Parkinson como alternativa a la medicación L-Dopa/carbidopa (Katzenschlager et al., 2004). También se ha utilizado en el tratamiento de pacientes psicóticos o en pacientes con alteraciones cognitivas, y en el tratamiento de la diabetes melitus y como antioxidante e hipolipemiente (Sharma et al., 1978; Yadav et al., 2013). También es usada por sus presuntas propiedades de mejora de la calidad del semen en el hombre infértil (Shukla et al., 2010)

Aunque existen numerosos trabajos que se refieren al uso de *Mucuna pruriens* como medicamento, existe una información limitada sobre su toxicidad a dosis única y a dosis repetidas.

En la Unión Europea *Mucuna pruriens* no está inventariada en el listado de sustancias vegetales para su evaluación (EMA, 2014). El documento DFS 6000 “List of Herbal and Homeopathic Remedies” (lista de hierbas y remedios homeopáticos) del manual interno de la HMRC, UK’s tax, payments and customs authority, del Reino Unido, clasifica a *Mucuna pruriens* bajo su denominación sinónima de *Dolichos pruriens* en la categoría “A”, reconocida como un producto medicinal. (<https://www.gov.uk/hmrc-internal-manuals/duty-free-spirits/dfs6000>).

Por su parte, la Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos (EFSA, 2012), la incluye como planta entera en el compendio de productos botánicos en los que se han identificado sustancias de posible riesgo para la salud humana cuando se utilizan en alimentos y complementos alimenticios, en base al elevado contenido de sus semillas en L-Dopa, además de otras sustancias biológicamente activas (alcaloides indólicos), derivados de la triptamina como N,N-dimetilriptamina, bufotenina, y 5-metoxi-N,N-dimetilriptamina (Infante et al., 1990; Misra y Wagner, 2004). Sin perjuicio del marco jurídico vigente, dicho compendio no tiene estatus legal y no puede ser utilizado como soporte o evidencia en cualquier desacuerdo o controversia relativa a la calificación jurídica de los productos o sustancias, siendo su propósito el de ayudar a los evaluadores y a los gestores

de riesgos responsables de la seguridad de los ingredientes específicos en los complementos alimenticios.

### 2.3 Uso en alimentación humana

Las semillas de *Mucuna pruriens* no son contempladas como alimento para consumo directo por sus efectos tóxicos potenciales derivados de su composición como se detalla en el apartado 3, subapartado “composición” de este informe. No obstante, en algunos países africanos, se consumen tras un tratamiento térmico en época de hambruna o escasez de alimentos (Onweluzo y Eilitta, 2003).

*Mucuna pruriens* y sus semillas han sido analizadas para conocer su calidad nutricional dado el fácil acceso a esta leguminosa en algunos países (Bhat et al., 2008; Gallegos, 1999). Por este motivo se evaluó como fuente alternativa de proteína y, aunque el resultado no fue positivo para este objetivo (Onweluzo, 2003), los procedimientos empleados para su evaluación sugieren la posibilidad de emplear técnicas de preparación que puedan eliminar la L-Dopa y otros compuestos biológicamente activos. Se constata que algunos tratamientos térmicos como el hervido aumentan la seguridad en el consumo de la semilla debido a la drástica reducción de su contenido en L-Dopa hasta valores inferiores al 1 % (Mugendia et al., 2010; Teixeira y Cullen Rich, 2003).

A este respecto, la semilla o derivados de *Mucuna pruriens* no tienen historial de consumo en la Unión Europea como alimento; no está autorizada como “Nuevo Alimento”; tampoco está inscrita a nivel nacional como complemento alimenticio; como se ha indicado, aparece recogida en el “Compendio Europeo de Plantas Restringidas” (EFSA, 2012); y además, las alegaciones nutricionales y de propiedades saludables utilizadas tampoco están validadas. Además, debe hacerse notar que el riesgo sería aún más grave por cuanto se trataría de productos destinados directamente a consumo humano.

### 2.4 Uso como antídoto en las mordeduras de serpientes

En Nigeria, las semillas de *Mucuna pruriens* se utilizan en la medicina popular como un antídoto en el tratamiento de las mordeduras de serpientes (*Echis carinatus*, *Naja naja*) (Soares et al., 2005).

### 2.5 Uso como biomasa o cobertura vegetal

Su posible interés agroecológico ha determinado que se halla empleado también como biomasa (Villareal Romero et al., 2014) o como cobertura vegetal para el barbecho (Berlingeri et al., 2008).

### 2.6 Contexto sociológico

Las semillas de *Mucuna pruriens* han sido empleadas en productos de artesanía. Este tipo de usos de dichas leguminosas ha sido analizado desde la perspectiva del desarrollo de áreas desfavorecidas. La artesanía es una herramienta de gran valor para favorecer la incorporación de los grupos indígenas a las actividades económicas y también como elemento para potenciar la riqueza cultural que les aporta identidad y les permite integrarse en la sociedad (Gallegos Téllez Rojo, 1999; Benedetti, 2012).

### 3. Clasificación botánica y características de *Mucuna pruriens*

*Mucuna pruriens* (L.) DC (sin. *Dolichos pruriens*) es una leguminosa tropical de la familia de las *Fabaceae*, perteneciente al género *Mucuna*, conocida como “grano de terciopelo”, “ojo de buey”, “ojo de venado”, “chiporazo”, “chiporro”, “fogaraté”, “kapikachu”, “pica”, “picapica”, “frijol terciopelo”, “nescafe”, “grano del mar”, “kratzbohnen”, “konch”, -yerepe (Yoruba)”, y “atmagupta”. *Mucuna pruriens* fue descrita por (L.) DC. y publicado en *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis* 2: 405, 1825.

El género *Mucuna* incluye aproximadamente 100 especies de bejucos y arbustos que se encuentran a través de las regiones tropicales del mundo. La *Mucuna pruriens* es nativa de la India y el sureste Asiático, pero ahora se encuentra con una distribución amplia en el trópico. Existen cuatro variedades botánicas de *Mucuna pruriens*; *Mucuna pruriens* var. *utilis* es la variedad cultivada que no pica, *Mucuna pruriens* var. *pruriens* (“pica pica”) tiene pelos urticantes que contienen el compuesto irritante mucanain, *Mucuna pruriens* var. *hirsuta*, de la India, y *Mucuna pruriens* var. *sericophylla*, de las Filipinas.

La *Mucuna pruriens* es una planta trepadora vigorosa con tallos de hasta 60 pies (18 m) de largo, aunque existen también variedades de bejuco corto. Las hojas son trifoliadas, con hojuelas de 2 a 5 pulgadas (5 a 12 cm) de ancho y 3 a 6 pulgadas (7 a 15 cm) de largo. Las flores blancas o púrpuras son autofecundadas y se encuentran en racimos axilares de hasta 12 pulgadas (32 cm) de largo. Las vainas se producen en grupos de 10 a 14, miden de 0.5 a 1 pulgada (1 a 2 cm) de ancho y de 1.5 a 5 pulgadas (4 a 13 cm) de largo, y están cubiertas con finos pelos de color blanco o marrón claro. Cada vaina contiene de 3 a 7 semillas, que son de 0.3 a 0.5 pulgada (0.8 a 1.3 cm) de ancho y de 0.4 a 0.8 pulgada (1 a 1.9 cm) de largo. Las semillas pueden ser negras, blancas, rojizas, marrones o moteadas, y tienen un hilo levantado (Bryan, 2011).



Ilustración de Miss S.A. Drake (fl. 1820s-1840s), en el 24 volumen del *Botanical Register* (1838), editado por John Lindley.



Ciertas variaciones en los colores y patrones de las semillas de diferentes variedades de *Mucuna*. Se advierte el prominente hilo levantado, que constituye el punto de unión entre la semilla y la vaina.

**Fuente:** Bryan, 2011.

### 3.1 Composición

*Mucuna pruriens* presenta una composición muy similar a las otras especies del género *Mucuna*. Desde el punto de vista nutricional con un contenido mayoritario en proteínas e hidratos de carbono (humedad (%)  $4,64 \pm 0,10$ ; proteína (%)  $37,5 \pm 0,27$ ; carbohidratos (%)  $44,9 \pm 0,25$ ; cenizas (%)  $3,24 \pm 0,16$ ; y grasa  $9,65 \pm 0$ ). Desde el punto de vista amino-acídico presenta un perfil muy similar a otras especies de *Mucuna* sp., aunque con un mayor déficit en cisteína y metionina que otras especies de *Mucuna* y sin diferencias en el resto de aminoácidos. Es importante destacar que los valores de aminoácidos por gramo de muestra son muy superiores a los descritos por FAO/WHO (1985) como valores de requerimientos esenciales en la dieta de niños en edad preescolar y escolar (Omohimi et al., 2014). En su composición, contiene fenilalanina, por lo que ha sido sugerido que su consumo puede ser peligroso para individuos con fenilcetonuria (Adebowale et al., 2005).

En referencia al informe solicitado al Comité Científico (Sección de Consumo) de AECOSAN sobre *Mucuna pruriens*, son determinadas sustancias biológicamente activas presentes en la composición de *Mucuna pruriens* las que tienen una mayor importancia por su potencial efecto tóxico y son las que, sin lugar a dudas, limitan sus usos.

Dentro de estos compuestos biológicamente activos se describe que los mayoritarios son: fe-noles totales (en su mayoría taninos):  $7,75 \pm 0,02$  g/100 g; inhibidores de tripsina  $24,2 \pm 0,08$  g/100 g; saponina  $1,46 \pm 0,01$  g/100 g; ácido fítico  $1,97 \pm 0,01$  g/100 g; L-Dopa  $4,99 \pm 0,02$  g/100 g; rafinosa  $1,65 \pm 0,01$  g/100 g; estaquirosa  $1,23 \pm 0,02$  g/100 g y verbascosa  $0,93 \pm 0,01$  g/100 g; todos expresados en materia seca (Adebowale et al., 2005). Estos valores pueden oscilar según las variedades de *Mucuna pruriens* y la procedencia geográfica de la planta. En el caso de la L-Dopa puede presentar concentraciones en las semillas entre 1,25 y 9,16 g/100 g de semillas (Ingle, 2003).

Es importante destacar la presencia de alcaloides, dentro de ellos la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (Misra y Wagner, 2004). Los estudios sobre los alcaloides se han basado en su identificación, así como en su presencia o ausencia tras el tratamiento térmico, pero no en su cuantificación.

Independientemente de las aminas biógenas, al tratarse de compuestos termolábiles la mayoría de estas aminas se inactivan por tratamiento térmico. Mwatseteza y Torto (2010) demuestran mediante estudios de tecnología alimentaria que la cocción de *Mucuna Pruriens* elimina 26 compuestos, la mayoría compuestos policíclicos y alcaloides. Pero teniendo en cuenta que no es posible el tratamiento térmico de las semillas con fines de bisutería puesto que perdería las características de color y textura que necesitan estos productos de artesanía, dichos compuestos se encontrarían activos en las semillas utilizadas para tal fin.

Las semillas de *Mucuna pruriens* contienen además almidones y resinas. Los almidones desde un punto de vista nutricional pueden tener interés por su aporte energético y están ligados a aspectos de alimentación principalmente en zonas poco desarrolladas. El contenido en resinas, está asociado a problemas de toxicidad dérmica (por contacto), inhalatoria y digestiva, pudiendo causar nauseas, cefaleas y mareos así como congestión respiratoria.

Por tanto de manera resumida los principales biológicamente compuestos activos (Adebowale et al., 2005; Bhat et al., 2008; Donati et al., 2005; Hope-Onyekwere et al., 2012; Manyam et al., 2004; Misra y Wagner, 2007; Shelly y Arthur, 1985) que *Mucuna pruriens* contiene son:

- L-Dopa (L-3,4-dihidroxifenil alanina). Es precursor de la dopamina, y es el principal constituyente de la semilla.
- Adrenalina y fenialanina.
- Acido nicotínico.
- Alcaloides tetrahidro-isoquinolina (en cantidades de 8-24 mg/500 g de semillas secas).
- Alcaloides mucunina, mucunadina, mucunadinina, y pruriénidina.
- Serotonina y su precursor 5-hidroxitriptamina (5-HTP).
- Compuestos de triptamina con efectos simpaticomiméticos y alucinógenos. Se encuentran en concentraciones muy bajas en las hojas, aunque no están presentes en las semillas la dimetil-triptamina (0,006%), la 5-MeO-dimetil-triptamina (0,0025%), y el óxido de dimetil-triptamina (0,003%).
- Carboxilesterasas, diversas saponinas, antraquinonas, flavonoides, terpenoides, glucósidos cardíacos y taninos.
- Inhibidores de proteasas.
- Proteasa mucunaina.
- Inositol (2,1 mg/g), mio-inositol (8,2 mg/g), y glucósidos de galactosa (11,4-21,2 mg/g).
- Otras sustancias bioactivas tales como  $\beta$ -sitosterol, glutatión, lecitina, ácido vernólico, y ácido gálico.
- Minerales dietarios en pequeñas cantidades tales como selenio y magnesio

## 4. Seguridad

### 4.1 Datos farmacológicos de interés para la evaluación de la seguridad por consumo de semillas de *Mucuna pruriens*

En el año 1937, la L-Dopa fue aislada a partir de las semillas de *Mucuna pruriens*, y es cuando se empieza a valorar la L-Dopa para el tratamiento de la enfermedad del Parkinson. (Damodaran, 1937). Katzenschlager et al. (2004) llevaron a cabo un estudio clínico, diseño cruzado, y a doble ciego, con el objetivo de determinar si una formulación a base de polvo de semillas de *Mucuna pruriens* originaba el mismo efecto, poseía el mismo perfil cinético y misma tolerancia que el compuesto estándar L-Dopa sintético en pacientes con síntomas de psicosis activa, en el tratamiento anti-psicótico, o en pacientes con alteraciones cognitivas. Las dosis ensayadas de polvo de *Mucuna pruriens* fueron 15 g y 30 g conteniendo 500 y 1000 mg de L-Dopa respectivamente. Este estudio mostró el perfil farmacológicamente activo del polvo de semillas de *Mucuna pruriens* a la dosis ensayadas de 15 y 30 gramos.

En otro estudio se investigó el efecto del extracto de *Mucuna pruriens* polvo liofilizado frente a diferentes niveles de exposición aguda y crónica en modelos animales, ratas y ratones, de hiperglucemia, utilizando diferentes agentes diabéticos (Rathi et al., 2002). Estos autores observaron que la reducción máxima en los niveles de glucemia se alcanzó en ratas con dosis de 200 mg *Mucuna pruriens*/kg p.c./día a las seis semanas de tratamiento. En ratones con diabetes crónica tratados con este extracto de *Mucuna pruriens* no mostraron ningún efecto significativo en los niveles plasmáticos de glucosa en los días 40, 50 y 60 de toma de muestras del estudio.

## 4.2 Toxicología

Se ha verificado en *Mucuna pruriens* la presencia de autacoides (histamina), que serían posiblemente en parte las sustancias que estarían involucrados en los procesos de irritación y edema y que en su mayoría se asocian con las vellosidades de las semillas pero que al ser difícilmente eliminados sin ser tratadas térmicamente pueden desencadenar reacciones alérgicas (Reginald y Georgewill, 2010). La mayoría de los estudios describen reacciones no muy graves pero si se asocian a edemas tras contacto prolongado.

Las flores y vainas cubiertas de pelos de la planta son causantes de hinchazón intensa y alergia si se ponen en contacto con la piel. Se ha señalado que el contacto casual con la vaina de la planta produce eritema y lesión macular prurítica, presumiblemente como resultado de una reacción de hipersensibilidad inmediata (Anonymous, 1985) siendo la proteasa mucunaina su agente prurítico activo (Shell y Arthur, 1955).

En la literatura científica se han encontrado diversos estudios de toxicidad llevados a cabo en animales de experimentación con *Mucuna pruriens* (molida, extractos o semillas) y que a continuación se describen. Hay que señalar que estos estudios no han sido realizados de acuerdo con la normativa actual de buenas prácticas de laboratorios (BPL), ni bajo las directrices de la OCDE, por lo que sus resultados hay que interpretarlos con cierta cautela a la hora de definir medidas dirigidas a establecer una relación riesgo/beneficio en el uso de las semillas de *Mucuna pruriens*.

### 4.2.1 Estudios de toxicidad aguda

Shahaji y Parnu (2011) evalúan la toxicidad aguda oral de *Mucuna pruriens* usando un extracto etanólico de planta completa que tuvo un rendimiento por cesión del 17 % p/p en dicho extracto. El estudio se llevó a cabo en ratones Swiss albinos de ambos sexos; no hubo letalidad para una "dosis límite" de 2000 mg/kg p.c. en 0.5 ml de agua destilada. El extracto etanólico de la planta de *Mucuna pruriens* se consideró de baja peligrosidad con un valor de  $DL_{50}$  (dosis letal media) superior a 2 000 mg/kg p.c. conforme a las directrices de clasificación de la OCDE.

En otro estudio llevado a cabo por vía oral en ratones albinos (no especifica la estirpe) de ambos sexos con un extracto de hojas de *Mucuna pruriens* se obtuvo un valor de  $DL_{50}$  de 10000 mg/kg p.c. (Akindede y Busayo, 2011); en este estudio no se observaron signos de toxicidad ni tampoco hubo mortalidad, lo que indica que el extracto de hojas de *Mucuna pruriens* por vía oral es prácticamente no toxico.

Khan et al. (2013) describieron la toxicidad oral aguda de *Mucuna pruriens* en ratones machos (no se especifica la estirpe), utilizando dosis únicas orales de 10, 100, y 1000 mg/kg p.c. con un periodo de observación de hasta 24 horas después de la administración; en este estudio el valor de la  $DL_{50}$  sería superior a 1000 mg/kg p.c. dado que no existía mortalidad en los animales. *Mucuna pruriens* fue molida para obtener un polvo fino que se administraba por vía oral mediante una suspensión en caboximetilcelulosa al 0.5%.

Por otra parte, Igbinauwya y Anoh (2012) estudiaron la toxicidad oral aguda de los extractos de hojas *Mucuna pruriens* ratones albino (no se especifica el sexo ni la estirpe) a dosis únicas orales de 1000, 2000, 4000, 6000 y 8000 mg/kg p.c. y en ratas Wistar de ambos sexos a dosis orales de 6000 y

8000 mg/kg p.c. Ambas especies se mantienen durante 14 días de observación para posibles signos clínicos de cambios de comportamiento, toxicidad y mortalidad. Durante el periodo de observación de 14 días no existieron cambios en el comportamiento ni mortalidad a la dosis oral máxima de 8000 mg/kg p.c. para ambas especies animales. Este valor ratifica la que los extractos de *Mucuna pruriens* son prácticamente no tóxicos.

#### 4.2.2 Estudios de toxicidad a dosis repetidas

Maxwell y Yusuf (2010) evaluaron la toxicidad oral a dosis repetida (28 días) en ratas Wistar (ambos sexos) de semillas de *Mucuna pruriens* el que estas se incluyen en la dieta en forma de harina (cruda y cocinada) a niveles del 10 %, 20 % y 50 %, equivalente a una ingesta de 2 g/día (10 mg/kg p.c./día), 4 g/día (20 mg/kg p.c./día), y 10 g/día (50 mg/kg p.c./día) de *Mucuna pruriens* respectivamente. Los resultados de este estudio que no cumple con normas BLP ni con las directrices de la OCDE, demuestran que existe un incremento significativo en las enzimas hepáticas (aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, y fosfatasa alcalina) y bilirrubina sérica total y conjugada en los grupos tratados con dosis de 10, 20 y 50 mg/kg p.c./día [harina (cruda y cocinada)]. Tras el tratamiento de los animales, se observó que la semilla de *Mucuna pruriens* posee potencial hepatotóxico, efecto que se reduce pero no se neutraliza por la cocción de las semillas antes de la incorporación a la ración de alimento. Estos autores sugieren que no deben utilizarse semillas de *Mucuna pruriens* como alimento, y que en aquellas situaciones extremas que no pudiera evitarse el consumo solo se debe usar tras su cocinado e incluida en pequeños porcentajes en la dieta. En este estudio no se puede identificar un NOAEL basado en la modificación de las actividades enzimáticas hepáticas.

Un segundo estudio de toxicidad oral a dosis repetidas (28 días) (que no cumple con normas BLP ni con directrices de la OCDE) se llevó a cabo en ratas (no especifica la estirpe) de ambos sexos a las que se les administró un extracto de hojas de *Mucuna pruriens* a dosis 50, 100, 200 y 400 mg/kg p.c. (Akindede y Busayo, 2011). Durante el estudio únicamente se llevó a cabo un examen hematológico. A la dosis de 400 mg/kg p.c. existía un descenso significativo del número de plaquetas y a las dosis de 50 y 200 mg/kg p.c. un descenso significativo del número de neutrófilos. En este estudio no se puede identificar un NOAEL basado en el descenso significativo del número de plaquetas y de neutrófilos.

Recientemente Omeh et al. (2014) estudian la toxicidad oral a dosis repetida (28 días) de aceite de semillas de *Mucuna pruriens* comparado con el aceite de palma. Para ello se tratan ratas Wistar machos con dosis orales de 10 g de aceite de *Mucuna pruriens* incorporado en la dieta, obteniendo resultados similares a los descritos por Maxwell y Yusuf (2010), en los que existe un incremento estadísticamente significativo de las enzimas séricas aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (ALP). Se observa también un aumento de la bilirrubina total y conjugada sérica, proteínas totales, albumina, creatinina y urea que es estadísticamente significativo. El examen histopatológico de los órganos de las ratas revela la presencia de lesiones varias, atrofia tubular y edema medio de los órganos del grupo de ensayo. A partir de este ensayo no se puede identificar un NOAEL basado en la modificación de las enzimas hepáticas, bilirrubina,

proteínas totales, albumina, creatinina y urea, así como lesiones y se concluye que el aceite de *Mucuna pruriens* no es seguro.

Un estudio de toxicidad a dosis repetida de duración 12 semanas (3 meses) y a dosis orales de 5, 10, 20, 30, 40, 50 y 100 mg/kg p.c. de *Mucuna pruriens* (extracto etanólico de semillas) se llevó a cabo en ratas Wistar diabéticas (inducidas por una dosis intravenosa de 120 mg de aloxano monohidrato/kg pc). En este estudio únicamente se observó como efecto adverso una reducción, dosis-dependiente, de los niveles de glucemia (Majekodunmi et al., 2011). Por otra parte, Igbinaduwa y Anoh (2012) en un estudio a dosis repetidas (30 días) (que no cumple con normas BPL ni directrices de la OCDE) demostraron que extractos de *Mucuna pruriens* en ratas Wistar, de ambos sexos, a los que se administra mediante sondaje gástrico dosis de 500, 2000, 6000 y 8000 mg/kg p.c./día se produce una disminución (no dependiente de la dosis) de los niveles de creatinina sérica, ni alteraciones en el comportamiento general de los animales y en el peso corporal (los signos de toxicidad se registraron cada 7 días hasta la finalización del experimento). Basados en los niveles de creatinina sérica no se puede identificar un NOAEL. Los valores de creatinina sérica no tienen un comportamiento que pudiera relacionarse con la dosis ni tampoco fueron estadísticamente significativos.

Khan et al. (2013) estudian la toxicidad a dosis repetida (90 días) de *Mucuna pruriens* en conejos machos (no se especifica la estirpe ni tampoco el cumplimiento de normas BPL y directrices de la OCDE) a una "dosis límite" de 70 mg/kg p.c. administrado oralmente (previo molido de *Mucuna pruriens* para forma un polvo) en suspensión en carboximetilcelulosa al 0,5%. Los resultados indican que no existen signos clínicos de toxicidad ni mortalidad. Tampoco existió variación en el peso corporal y los parámetros hematológicos. Basados en estos datos se puede identificar un NOEL de 70 mg/kg p.c./día.

#### 4.2.3 Toxicidad en humanos

En la bibliografía no se dispone de valores de NOAEL para la L-dopa en humanos. En el hombre, se han evaluado los efectos clínicos de la *Mucuna pruriens* en la enfermedad del Parkinson (Katzenschlager et al., 2004); independientemente de náuseas en dos pacientes tratados con dosis de 30 g de *Mucuna pruriens*, no se observó ningún otro efecto adverso, ni tampoco se detectaron alteraciones en la bioquímica clínica ni en los parámetros hematológicos. Tampoco se detectó ningún efecto adverso sobre el sistema dopaminérgico periférico. Se ha estimado un valor estándar toxicológico de TD<sub>Lo</sub> (lowest published toxic dose o toxic dose low) (dosis tóxica más baja publicada o dosis tóxica mínima) de L-Dopa oral en humanos de 4286 mg/kg p.c. (Cayman Chemical, 2015).

## 5. Evaluación del riesgo

### 5.1 Evaluación del riesgo por ingesta

En base a los valores de toxicidad oral aguda (DL<sub>50</sub>) y de toxicidad a dosis repetidas se puede concluir que las semillas de *Mucuna pruriens* presentan una baja toxicidad.

El principal factor de riesgo por consumo oral de semillas de *Mucuna pruriens* se debe a su elevado contenido en L-Dopa (1,25-9,16 g/100g de semillas) (Ingle, 2003); dados sus efectos neurofarmacológicos, las reacciones adversas más frecuentes son las discinesias y otros tipos de

movimientos involuntarios, náuseas, vómitos, episodios psicóticos, alucinaciones, e ideas paranoicas, entre otros. Además en las semillas están presentes otras sustancias activas minoritarias como N,N-dimetiltriptamina, butofenina, indol-3-alquilaminas y otros alcaloides que son sustancias controladas en muchos países por sus efectos psicoactivos a dosis bajas.

Para estimar la cantidad de L-Dopa en las semillas se considera que su concentración se encuentra en el rango del 1.25% al 9.16 % materia seca (valor medio del 5%) y su peso entre 0,9-1,1 g. Así, cada semilla puede contener entre 12,5-91,6 mg de L-Dopa (valor medio 50 mg), concentración que presenta efectos farmacológicos. La dosificación en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson varía entre 50-200 mg de L-Dopa administrada 3-4 veces al día (Brayfield, 2014).

La siguiente tabla muestra el contenido mínimo y máximo de L-dopa en las distintas partes que componen la planta de *Mucuna Pruriens*.

<i>Mucuna pruriens</i>	L-dopa (% mínimo)	L-dopa (% máximo)
Raíz	0,12	0,16
Tallo	0,19	0,31
Hojas	0,17	0,35
Semillas	1,25	9,16
Pericarpio	0,09	0,22

**Fuente:** Datos tomados de Ingle, 2003.

En el caso de las semillas y extrapolando sus contenidos a las dosis del ensayo clínico de diseño cruzado y a doble ciego llevado a cabo por Katzenschlager y colaboradores (2004), se demostró un perfil farmacológicamente activo por el polvo de semillas de *Mucuna pruriens* a las dosis del ensayo de 15 y 30 gramos (equivalente a 500 y 1000 mg de L-Dopa respectivamente). Es posible por ello obtener la ingesta calculada en número de semillas necesario para observar dichos efectos sin incrementar la gravedad de la discinesia ni otros efectos adversos a nivel del sistema dopaminérgico periférico. En la siguiente tabla 2 se expresa dicho cálculo en número de semillas.

<i>Mucuna pruriens</i> (polvo de semillas)	Contenido L-dopa en % y en mg de semilla de peso de 1 gramo	500 mg de L-dopa	1 000 mg de L-dopa	1 500 mg de L-dopa	2 000 mg de L-Dopa
Semillas con contenido mínimo de L-dopa	1,25 % (L-dopa min.) 12,5mg L-dopa/semilla	40 semillas	80 semillas	120 semillas	160 semillas
Semillas con contenido máximo de L-dopa	9,16 % (L-dopa max.) 91,6 mg L-dopa/semilla	5,4 semillas	10,8 semillas	16,2 semillas	21,6 semillas

**Fuente:** Datos tomados de Ingle, 2003.

Actualmente la literatura científica y los sumarios de características de productos (SPC) (medica-

mentos de uso humano) que contienen L-dopa, establecen de 1500 a 2000 mg L-Dopa/persona/día como “dosis máxima diaria tolerable” para el tratamiento farmacológico crónico de la enfermedad de Parkinson, lo que se podría alcanzar con el consumo de 30-40 semillas que contuviesen un valor medio de 50 mg de L-Dopa por semilla. Esta cifra puede ser utilizada como referencia para el consumo de L-Dopa procedente de la ingestión de *Mucuna pruriens*; pero hay que tener en cuenta que pueden existir otras interacciones de naturaleza tóxica por el efecto de otros compuestos biológicamente activos presentes en las semillas o cuando *Mucuna pruriens* se consume en complementos o preparados alimenticios obtenidos a partir de la planta entera.

Todos los valores mencionados se refieren a personas adultas. No se ha establecido la seguridad y eficacia para la población pediátrica y no hay datos suficientes sobre el uso en niños y mujeres gestantes. Por lo que empleando el valor de “dosis máxima diaria tolerable” para el tratamiento farmacológico crónico de la enfermedad de Parkinson tratamiento neurofarmacológicos, referido en este caso a los niños y a un peso corporal de 30 kg/niño, daría lugar a un valor de “dosis máxima diaria tolerable” de 643 a 857 mg L-dopa/día. Esta extrapolación no tiene en cuenta, por falta de datos científicos, las posibles diferencias en el comportamiento toxicológico de la L-dopa por razones de edad y sexo. Aplicando el principio de máxima precaución estos valores deberían ser tenidos en cuenta para su consideración por los gestores del riesgo.

Para la toxicidad oral a dosis repetida (estudio de 90 días de duración en conejos) se ha podido identificar un NOEL de 70 mg/kg p.c./día (“dosis límite”). El principal factor de riesgo por ingestión oral de las semillas se debe a su elevado contenido en L-Dopa, dadas sus acciones farmacológicas a dosis bajas, además de otras sustancias psicoactivas minoritarias. Teniendo en cuenta el contenido de L-Dopa (1,2-9,16 %) por semilla y de otros principios psicoactivos, sería necesario ingerir una media de 30 semillas para alcanzar la “dosis máxima diaria tolerable” que presenta efectos neurofarmacológicos en adultos (1500 mg L-Dopa/persona/día) (considerando un peso de 70 kg), variando entre 16 y 120 semillas en función de la concentración de L-Dopa en las semillas.

Para niños no se conoce la “dosis máxima diaria tolerable” de L-Dopa/día. Tomando como referencia el valor estándar toxicológico de la  $TD_{Lo}$  para la L-Dopa oral en humanos de 4286 mg/kg se obtendría un margen de seguridad de 200 en el caso de adultos y de 85 en el caso de los niños, considerando para dicha dosis valores de ingesta media de 21.4 mg/L-Dopa/kg p.c. (adulto de 70 kg de peso, equivalente a 1500 mg/L-Dopa/persona/día) y 50 mg/L-Dopa/Kg p.c. (niño de 30 kg de peso), respectivamente. Lo que se considera sin riesgo para la ingesta continuada y/o repetida de semillas de *Mucuna pruriens* ya que supera en ambos casos un margen de seguridad de 30 (factor de variabilidad humana de 10 al que se aplica un factor de incertidumbre de 3, dado que se tiene en cuenta el efecto mínimo tóxico en el hombre).

Basándonos en el NOEL disponible (70 mg/kg p.c./día, “dosis límite”) y teniendo en cuenta las consideraciones de exposición a las semillas de *Mucuna pruriens*, se alcanzaría un margen de seguridad para adultos de 3 y de 1 para los niños, lo que se considera bajo pues no llegarían a 100 (aplicados los factores de variabilidad individual de 10 y de diferencia de especies de 10). Este valor de NOEL se ha identificado a partir de una “dosis límite” y podría haber sido más alto si se hubiera realizado en un estudio de dosis-respuesta. Teniendo en cuenta que existe publicado un valor

estándar toxicológico de  $TD_{Lo}$  para la L-Dopa oral en el hombre, se considera oportuno tener en cuenta este valor para el cálculo del margen de seguridad de las semillas *Mucuna pruriens*, que da lugar tanto en adultos como en niños a un margen de seguridad superior a 30, lo que se considera un amplio margen.

Además del consumo de las semillas de *Mucuna pruriens*, en los últimos años se ha popularizado su uso en productos naturales basados en plantas medicinales, suplementos alimenticios y de medicina alternativa de venta en establecimientos y especialmente a través de Internet con indicaciones diversas (tratamiento alternativo a la enfermedad de Parkinson, depresión, suplementos dietéticos, energizantes, afrodisíaco, y digestivo, entre otros). Debido a la falta de estudios sobre su composición, efectividad y toxicidad, así como de regulación específica, existe un riesgo potencial en su consumo; por el que el consumidor puede estar expuesto a productos naturales distintos a los aquí referidos y al efecto aditivo de otros ingredientes activos.

## 5.2 Evaluación del riesgo por manipulación y uso de la semilla como producto de artesanía

La manipulación y el uso de las semillas de *Mucuna pruriens* como producto de artesanía puede originar prurito intenso y alergias de contacto, debido a la presencia de aminas biógenas tales como histamina y 5-hidroxitriptamina (5-HT) en la composición de la semilla y en las vellosidades de las vainas. Estos efectos pueden ser más importantes en las personas con sensibilidad a *Mucuna pruriens*. Se ha señalado también que el contacto cutáneo casual con la vaina de la planta produce eritema y lesión macular prurítica siendo el causante la proteasa mucunaina (Hoe-Onyekwere, 2012)

Además, el desgaste de la cubierta de la semilla al contacto con la piel puede facilitar la absorción por vía dérmica de los compuestos biológicamente activos.

Hay que considerar también el riesgo ocasionado por la exposición accidental de las semillas vía inhalatoria o por ingestión por parte de los niños pequeños debido a sus reducidas dimensiones y sabor dulce, que pueden provocar la obstrucción total o parcial de las vías respiratorias o bien la oclusión en el tracto gastrointestinal. En el caso de las semillas de *Mucuna pruriens*, con dimensiones medias de 10-19 mm de longitud x 8-13 mm de ancho x 4-6.5 mm espesor este riesgo es existente.

## Conclusiones

El Comité Científico de la AECOSAN, Sección Consumo, desde el punto de vista del uso de semillas de *Mucuna pruriens* en los productos de artesanía y el posible riesgo por ingestión accidental, eleva las siguientes conclusiones:

1. No es posible excluir el riesgo de prurito intenso y alergia de contacto por el uso de las semillas de *Mucuna pruriens* como producto de artesanía. Con los datos científicos disponibles, no es posible establecer un cálculo de este factor de riesgo para su valoración.
2. La ingestión de las semillas de *Mucuna pruriens* presenta baja toxicidad oral aguda (superior a 2000 mg/kg p.c en ratas), lo que indica baja peligrosidad.

3. El margen de seguridad para la ingesta, de las semillas *Mucuna pruriens*, tanto en forma accidental como continua y tanto en adultos como en niños, es superior a 30, lo que se considera un amplio margen de seguridad.
4. La ingesta accidental de semillas de *Mucuna pruriens* no presenta riesgo toxicológico por exposición aguda y crónica para adultos y niños por el uso en productos de artesanía. No obstante debido a la presencia de L-Dopa, y otras sustancias biológicamente activas que pueden tener a su vez una acción sinérgica, la ingesta voluntaria de semillas de *Mucuna pruriens* en condiciones no controladas y no evaluadas, constituye un “factor de peligro” a considerar para la salud de los consumidores.

## Recomendaciones

**Se recomienda que las autoridades reguladoras competentes tengan las siguientes** consideraciones a la hora de adoptar las medidas de gestión de riesgos que estimen oportunas:

1. Por su forma, textura, color, reducidas dimensiones y sabor dulce, las semillas de *Mucuna pruriens* pueden ser ingeridas de forma accidental por los niños, ocasionando posibles problemas de oclusión respiratoria o digestiva, especialmente para los niños con edades inferiores a 3 años. Por tanto, en particular para los niños, el uso de la semilla de *Mucuna pruriens* como componente de los productos de artesanía puede suponer un riesgo para su salud, dada la probabilidad de una oclusión respiratoria o digestiva accidental lo que es razonablemente previsible. No obstante este tipo de riesgo está generalizado para otras semillas de leguminosas y productos de uso cotidiano en el ámbito doméstico y al alcance de los niños en una posible ingesta accidental. Por ello este tipo de productos de artesanía debería llevar un etiquetado con advertencias específicas que incluyan frases como “Mantener alejado del alcance de los niños” y/o “Este producto contiene partes que por sus reducidas dimensiones pueden ser ingeridas con riesgo de asfixia para los niños” u otras frases de tipo similar.
2. Los efectos resultantes de la actividad biológica de la semilla pueden llegar al consumidor final, bien a través de la venta del producto artesanal elaborado o de su comercialización en semillas distribuidas a granel. Cualquier medida en la gestión del riesgo que se adopte al respecto debe considerar la disponibilidad de la semilla en contextos diferentes a los mercados de artesanía.
3. Por los motivos expuestos este Comité Científico recomienda que si los datos cuantitativos por volumen de comercialización, ingestas con atención hospitalaria y/o alertas sanitarias por consumo voluntario de *Mucuna pruriens* fueran significativos, en dicho caso, debería evaluarse además el riesgo de su ingesta voluntaria destinada al consumo humano que incluyen a esta semilla como ingrediente principal; en particular debido a su actual comercialización por Internet, en aquellos supuestos en los que esta comercialización carezca de título jurídico que la ampare.

## Referencias

- Adebowale Y.A., Adeyemi, A., Oshodi, A.A. (2005). Variability in the physicochemical, nutritional and antinutritional attributes of six *Mucuna* species. *Food Chemistry*. 89, pp: 37–48.

- Akindede, A.J., Busayo, F.I., (2011). Effects of the hydroethanolic extract of *Mucuna pruriens* (L.) DC (Fabaceae) on haematological profile in normal and haloperidol treated rats. *Nigerian Quarterly Journal of Hospital Medicine* 21(2), pp: 93-98.
- Agbafor, K.N., Nwachukwu, N., (2011). Phytochemical Analysis and Antioxidant Property of Leaf Extracts of *Vitex doniana* and *Mucuna pruriens*. *Biochemistry Research International*, Article ID 459839, doi:10.1155/2011/459839, pp: 1-4.
- Anonymous., (1985). *Mucuna pruriens*-associated pruritus-New Jersey. *The Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR). Rep. 48, pp: 732-734.
- Benedetti, C.M., (2012). Producción artesanal Indígena y comercialización: entre los “Buenitos” y los “Barateros”, Maguaré, 26 (1), ISSN-e 0120-3045, pp: 229-262.
- Berlinger, C., Yuncosa, N., Pérez, T., (2008). Evaluación de cinco leguminosas en barbecho mejorado para el control de malezas en la planicie del río Motatán, Estado Trujillo, Venezuela. *Agronomía. Tropical*. (Maracay) 58(2), pp: 117-123.
- Bhat, R., Sridhar, K.R., Seena, S., (2008). Nutritional quality evaluation of velvet bean seeds (*Mucuna pruriens*) exposed to gamma irradiation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 59(4), pp: 261-278.
- Brayfield, A. (2014). *Martindale: The Complete Drug Reference*. Editado por A. Brayfield. 37ª edición. Londres: *Pharmaceutical Press*.
- Brunner, B., Beaver, J. y Flores, L., (2011). Hoja Informativa de MUCUNA, Proyecto de Agricultura Orgánica Z-NRCS-007, Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales, Estación Experimental Agrícola de Lajas, Recinto Universitario de Mayagüez (RUM) de la Universidad de Puerto Rico.
- Cayman Chemical. (2015). Safety Data Sheet L-DOPA according to Regulation (EC) No. 1907/2006 as amended by (EC) No. 1272/2008 (rev: 03/09/2015).
- Damodaran M , Ramaswamy R., (1937). Isolation of L-dopa from the seeds of *Mucuna pruriens*. *Biochemical Journal* 31(12), pp: 2149–2152.
- Donati, D., Lampariello, L.R., Pagani, R., Guerranti, R., Cinci, G., Marinello, E., (2005). Antidiabetic oligocyclitols in seeds of *Mucuna pruriens*. *Phytotherapy Research* 19, pp: 1057-1060.
- EMA, European Medicines Agency, (2014). Inventory of herbal substances for assessment. EMA/HMPC/494079/2007, 22 July 2014 (Last update: July 2014).
- EFSA, European Food Safety Authority, (2012). Compendium of botanicals reported to contain naturally occurring substances of possible concern for human health when used in food and food supplements. *EFSA Journal* 2012; 10(5), doi:10.2903/j.efsa.2012.2663. pp: 2663
- Ezeja Maxwell, I., Ohmed Yusuf, H., (2010). Toxicological studies of *Mucuna pruriens* seeds in albino rats using liver function tests. *International Journal of Current Research* 5, pp: 056-060.
- FAO/WHO, Food and Agriculture Organisation / World Health Organisation, (1985). Energy and protein requirements. Report of the Joint Expert Consultation, WHO Technical Report Series 724. Geneva.
- Gallegos, J.R., (1999). La artesanía, un modelo social y tecnológico para los indígenas. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad, Xochimilco, México. *Política y cultura* 12, pp: 223-241
- Hoe-Onyekwere, N.S., Ogueli, G.I., Cortelazzo, A., Cerutti, H., Cito, A., Aguiyi, J.C., Guerranti, R. (2012). Effects of *Mucuna pruriens* protease inhibitors on *Echis carinatus* venom. *Phytotherapy Research* 26 (12), pp:1913-1919.
- Igbinaduwa, P.O., Anoh, O.O., (2012). Phytochemical and toxicological studies of *Mucuna pruriens* leaves. *Journal of Pharmacy and Bioresources* 9(2), pp:62-66.
- Infante, M.E., Pérez, A.M., Simao, M.R., Manda, F., Baquete, E.F., Fernandes, A.M., Cliff, J., (1990). Outbreak of acute toxic psychosis attributed to *Mucuna pruriens*. *The Lancet*, 336 (8723): 1129.
- Ingle, P.K., (2003). L-dopa Bearing plants. *Natural Product Radiance* 2(3), pp: 126-133
- Jabadhas, A.W., (1980). Ethnobotanical studies on some hill tribes of South India. Ph.D. Thesis, Madras University, Madras, India.

- Khan, R.A., Arif, M., Sherwani, B., Ahmed, M., (2013). Acute and sub chronic toxicity of *Mucuna pruriens*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Myristica fragrans* and their effects on hematological parameters. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 7(8), pp: 641-647.
- Katzenschlager, R., Evans, A., Manson, A., Patsalos, P.N., Ratnaraj, N., Watt, H., Timmermann, L., Vad der Giesen, R., Lees, A.J., (2004). *Mucuna pruriens* in Parkinson's disease: a double blind clinical and pharmacological study. 2004. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 75, pp: 1672-1677.
- Majekodunmi, S.O., Oyagbemi, A.A., Umukoro, S., Odeku, O.A., (2011). Evaluation of the anti-diabetic properties of *Mucuna pruriens* seed extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 4(8), pp: 632-636.
- Manyam, B.V., Dhanasekaran, M., Hare, T.A., (2004a). Effect of antiparkinson drug HP-200 (*Mucuna pruriens*) on the central monoaminergic neurotransmitters. *Phytotherapy Research* 18, pp: 97-101.
- Manyam, B.V., Dhanasekaran, M., Hare, T.A., (2004b). Neuroprotective effects of the antiparkinson drug *Mucuna pruriens*. *Phytotherapy Research* 18, pp: 706-712.
- Maxwell, E., Yusuf, O., (2010). Toxicological studies of *Mucuna pruriens* seeds in albino rats using liver function tests. *International Journal of Current Research* 5, pp: 56-60.
- Mwatseteza, J.F., Torto, N. (2010). Profiling volatile compounds from *Mucuna* beans by solid phase microextraction and gas chromatography-high resolution time of flight mass spectrometry. *Food Chemistry* 119, pp: 386-390.
- Misra, L., Wagner, H., (2004). Extraction of bioactive principle from *Mucuna pruriens* seeds. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 44, pp: 56-60.
- Misra L, Wagner H., (2004). Alkaloidal constituents of *Mucuna pruriens* sedes. *Phytochemistry* 65(18), pp: 2565-2567.
- Omohimi, C.I, Sobukola, O.P, Sarafadeen, K.O.and Sanni, L.O., (2014). Effect of Thermo-extrusion Process Parameters on Selected Quality. Attributes of Meat Analogue from *Mucuna* Bean Seed Flour. *Nigerian Institute of Food Science and Technology* 32 (1), pp: 21-30.
- Omeh, Y.N., Akachukwu, d., Njoku, O.U., (2014). Physicochemical properties of *Mucuna pruriens* seed oil (MPSO), and the toxicological effects of a MPSO-based diet. *African Journals Online (AJOL)*, *Biokemistri* 26(3), pp: 88-93.
- Onweluzo, J., Eilitta, M., (2003). Surveying *Mucuna*'s utilization as a food in Enugu and Kogi States of Nigeria. *Journal of Tropical and subtropical agroecosystems* 1, pp: 213-225
- Rathi, S.S., Grover, J.K., Vats, V., (2002). The effect of *Momordica charantia* and *Mucuna pruriens* in experimental diabetes and their effect on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *Phytotherapy Research* 16, 236-243.
- Reginald, N.P., Nwankwoala & Georgewill, O.A., (2010). The extract of *Mucuna pruriens* possesses histamine activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 3(1), pp: 29-31.
- Shahaji, P.S., Parnu, S.A., (2011). Acute oral toxicity of *Mucuna pruriens* in Swiss albino mice. *International Research Journal of Pharmacy* 2(5), pp: 162-163.
- Sharma, M.L., Chandhoke, N., Ray Ghatak, B.J., Jamwal, K.S., Gupta, O.P., Singh, G.B., (1978). Pharmacological screening of Indian medicinal plants. *Indian Journal of Experimental Biology* 16, pp: 228-235.
- Shelly, W.B., Arthur, R.P., (1985). Studies on cowhage (*Mucuna pruriens*) and its pruritogenic protease mucunain. *Archives of Dermatology* 72, pp: 399-406.
- Shukla, K.K., Mahdi, A.A., Ahmad, M.K., Jaiswar, S.P., Shankwar, S.N., Tiwari, S.C., (2010). *Mucuna pruriens* reduces stress and improves the quality of semen in infertile men. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 7(1), pp: 137-144.
- Soares, a.M., Ticli, F.K., Marcussi, S., Lourenco, M.V., Januario, A.H., Sampaio, S.V., Giglio, J.R., Lomonte, B., Pereira, P.S., (2005). Medicinal plants with inhibitory properties against snake venoms. *Current Medicinal Chemistry* 12(22), pp: 2625-2641.
- Yadav, S.K., Prakash, J., Chouhan, S., Singh, S.P., (2013). *Mucuna pruriens* seed extract reduces oxidative stress in nigrostriatal tissue and improves neurobehavioral activity in paraquat-induced Parkinsonian mouse model. *Neurochemistry International* 62(8), pp: 1039-1047.

# Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre la seguridad de uso de los cigarrillos electrónicos

## Sección de Consumo

Arturo Anadón Navarro (presidente), Juan Arpio Santacruz, Cecilia Díaz Méndez (vicepresidenta), Cristóbal Gómez Benito, Marceliano Herrero Sinovas, Manuel Izquierdo Carrasco, Ana Belén Martín Diana, Soledad Muniategui Lorenzo, María José Toro Nozal, Germán Vicente Rodríguez

## Secretaría técnica

Manuel Carbó Martínez (secretario), Miguel Ysa Valle, Luis de la Fuente Ramírez, Ana de Miguel Herrera

Número de referencia: AECOSAN-2016-006

Documento aprobado por la Sección de Consumo del Comité Científico en su sesión plenaria de 13 de julio de 2016

## Grupo de trabajo

M<sup>o</sup> José Toro Nozal (Coordinadora)  
Arturo Anadón Navarro  
Juan Arpio Santacruz  
Cecilia Díaz Méndez  
Cristóbal Gómez Benito  
Manuel Izquierdo Carrasco  
Germán Vicente Rodríguez

## Resumen

El Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) ha evaluado el riesgo para la salud de uso de los cigarrillos electrónicos. La evaluación realizada permite concluir que la seguridad de los cigarrillos electrónicos es incierta. Hay una gran variación entre los distintos tipos de cigarrillos, la cantidad de los ingredientes en el líquido a vaporizar, así como en el contenido que se libera tras la vaporización. Los efectos sobre la salud a largo plazo son desconocidos. A corto plazo incluyen inflamación de boca y garganta, náuseas, vómitos y tos. En el vapor que se genera tras el “vapeado” se han encontrado, propilenglicol, glicerina, nicotina, aromatizantes, carcinógenos, metales pesados y otros productos químicos. No hay estudios a largo plazo que demuestren que el uso de estos cigarrillos sea eficaz para tratar la adicción al tabaco, ni tampoco estudios de toxicidad crónica en roedores para conocer los efectos a largo plazo de la exposición por el uso de los cigarrillos electrónicos. Los estudios *in vitro* sobre los efectos del vapeado de los cigarrillos electrónicos sobre la regulación del ciclo celular, estrés oxidativo y mitocondrial y daño del ADN asociado con las células de las vías aéreas humanas serían de gran utilidad para la evaluación del riesgo para la salud. Se necesitan también datos epidemiológicos sobre los efectos adversos que causan sobre la salud los cigarrillos electrónicos, especialmente en la población más vulnerable. Por otra parte, en la actualidad se está llevando a cabo la transposición de la normativa europea en lo referente a fabricación, presentación y venta de los productos del tabaco.

**Nota:** El término “vapeado” es realmente un anglicismo pero, dado su uso extendido en revistas y medios de comunicación, se ha optado por su empleo para facilitar la comprensión de todos los lectores de este informe.

## Palabras clave

Cigarrillos electrónicos (*e-cigarette*), cartuchos, depósito, envases de recarga, nicotina, propilenglicol, vapeado.

## Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) on electronic cigarettes

### Abstract

The Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) has assessed the health risks associated with electronic cigarettes. The completed assessment concluded that the safety of electronic cigarettes is uncertain. The types of cigarettes, amount of ingredients in the vaporised liquid as well as the substance that is released, differ greatly. The long-term health effects are unknown. The short-term effects include mouth and throat inflammation, nausea, vomiting and coughing. Propylene glycol, glycerine, nicotine, flavouring, carcinogens, heavy metals and other chemicals have been found within the steam that is released when “vaping”. There are no long-term studies that demonstrate that e-cigarettes are effective in treating tobacco addiction, or chronic toxicity studies in rodents to learn the long-term effects of the exposure due to the use of electronic cigarettes. The *in vitro* studies on the effects of electronic cigarette smoking on cell cycle regulation, oxidative and mitochondrial stress and DNA damage associated with the cells of human airways would be of great use to evaluate the health risks. Epidemiological data on the adverse health effects of electronic cigarettes is also needed, especially on the most vulnerable population. On the other hand, the transposition of the European regulation regarding the manufacture, presentation and sale of tobacco products is currently underway.

### Key words

Electronic cigarettes (*e-cigarettes*), cartridges, tank, refill packs, nicotine, propylene glycol, vaping.

**Note:** The term “vaping” is really an Anglicism, but given its extensive use in magazines and the media, it has been used to facilitate the readers understanding of this report.

## Índice

1. Introducción
    - 1.1 Términos de referencia
  2. Usos reconocidos y marco sociológico
  3. Definición y caracterización del producto
  4. Seguridad
    - 4.1 Peligrosidad de las sustancias químicas
    - 4.2 Identificación y caracterización de la peligrosidad de la nicotina
    - 4.3 Exposición
    - 4.4 Caracterización del riesgo
  5. Marco regulatorio
    - 5.1 Normativa aplicable
    - 5.2 La directiva 2014/40/ue del parlamento europeo y del consejo, de 3 de abril de 2014 y su transposición al derecho español
- Conclusiones
- Recomendaciones
- Referencias
- Legislación

## 1. Introducción

El Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) presenta este informe principalmente dirigido a la evaluación de la seguridad de uso de los cigarrillos electrónicos, fundamentalmente en lo relativo al contenido de los cartuchos que lo componen: nicotina, propilenglicol, glicerina y otros aditivos. Se evalúa la influencia del sistema de vaporizado en la generación del vapor que producen estos dispositivos.

Se han consultado, entre otras muchas, las siguientes bases de datos, explicitadas por su relevancia: *PubMed-Medline*, *SciFinder*, *ScienceDirect*, *Web of Knowledge* y también se ha tenido en cuenta el informe del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSSSI), Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación de 2014. En este informe, no se ha analizado el componente electrónico.

Este informe fue aprobado en la reunión del Comité Científico de la AECOSAN celebrada el día 20 de abril de 2016. El informe fue enviado para su consideración y observaciones a la Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Por este motivo este informe ha sido sometido a revisión en atención a las consideraciones emanadas de la Unidad de Prevención del Tabaquismo dependiente de la citada Dirección General. Esta revisión se ha efectuado a fecha 13 de julio de 2016.

### 1.1 Términos de referencia

La Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) consulta al Comité Científico sobre si los cigarrillos electrónicos (*e-cigarettes*) comportan riesgos para la salud por el hecho del acto del "vapeado" que conlleva inhalar vapor de agua acompañado de nicotina, propilenglicol, y saborizantes, entre otros. En el componente nicotina, qué rango de éste se inhala y, finalmente, qué efectos adversos pudiera tener la formación del vapor que se genera sobre terceros. Otras cuestiones a tener en cuenta son las condiciones de uso, pues inciden, directa o indirectamente, en la salud del usuario de los cigarrillos electrónicos.

## 2. Usos reconocidos y marco sociológico

Al tratar de analizar los riesgos para la salud del consumo de un producto, como el que nos ocupa, se deben considerar algunos aspectos que van más allá de las características intrínsecas del producto, pues afectan a las condiciones de su consumo, y, por consiguiente, a sus efectos sobre la salud.

El riesgo es una función de la peligrosidad del producto en sí y a su exposición. Esta exposición puede ser voluntaria o involuntaria. La exposición está condicionada por factores ambientales (lugar donde se consume el producto) y personales (hábitos de consumo del producto, percepciones del mismo y de su peligrosidad, y actitudes, entre otros), que influyen en la intensidad y la frecuencia del acto del consumo, en este caso, del acto del vapeado inherente al uso de los cigarrillos electrónicos. Por lo tanto, se deben tener en cuenta las circunstancias que afectan a dicho acto de vapeado para valorar mejor el riesgo del producto.

Tal y como se ha confirmado en el estudio de Grana y Ling (2014) sobre la percepción y el consu-

mo de cigarrillos electrónicos, este tipo de productos se anuncian a través de la televisión, internet e impresos como una alternativa más saludable a fumar cigarrillos de tabaco, como un método útil para dejar de fumar y reducir el consumo de cigarrillos y también como una forma de eludir las leyes antitabaco al permitir a los usuarios fumar en cualquier lugar de pública concurrencia. Se ha comprobado que las percepciones de los consumidores del riesgo y los beneficios, así como las decisiones para utilizar los cigarrillos electrónicos, están muy influidas por la forma en que se comercializan y por la existencia de una publicidad muy agresiva. Analizando los sitios web de ventas de marcas de cigarrillos electrónicos en 2012, Grana y Ling (2014) encontraron que los mensajes más importantes eran que los productos son más saludables (95 %), más baratos (93 %), y más limpios (95 %) que los cigarrillos convencionales; otras ventajas, según la publicidad, resaltaban el hecho de poder vapear en cualquier lugar de pública concurrencia (88 %), y su uso en lugares sometidos a las políticas libres de humo (71 %); que no producen humo para terceros (76 %), y asocian el consumo de estos cigarrillos electrónicos a la idea de que son más modernos (3 %) (Grana y Ling, 2014). Estas propiedades más saludables, según la publicidad, estaban reforzadas por texto e imágenes con representaciones de vídeos de médicos presentes en el 22 % de las páginas webs. Afirmaciones directas o indirectas de abandono del tabaco fueron encontradas en el 64 % de los reclamos publicitarios. En definitiva, la publicidad coincide en afirmar que los cigarrillos electrónicos sólo producen un “inofensivo vapor de agua”.

Frente a los beneficios aducidos por el “marketing”, existe un amplio consenso en considerar que faltan evidencias científicas que avalen esos supuestos beneficios. (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2014).

Por otra parte, los riesgos individuales o sus beneficios y la valoración del impacto total de estos productos se producen en el contexto de una amplia disponibilidad del producto, pero también del doble uso de los cigarrillos electrónicos junto con los cigarrillos convencionales. Los datos muestran que los cigarrillos electrónicos no siempre se usan como sustitutivo de los cigarrillos de tabaco tradicional (Grana et al., 2014) , (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2014).

En el contexto español, el 40 % de una muestra de 736 personas cree que los cigarrillos electrónicos tienen un efecto perjudicial sobre los usuarios y el 27 % que también afecta negativamente a personas expuestas de forma pasiva. En este mismo estudio una mayoría piensa que estos cigarrillos sirven más bien para fumar menos que para dejar de fumar (Martínez-Sánchez et al., 2015).

Aunque los datos son limitados, es evidente que las emisiones al aire que produce el cigarrillo electrónico no son simplemente “vapor de agua inocua”, como se afirma con frecuencia, y puede ser una fuente de contaminación en espacios cerrados. La introducción de los cigarrillos electrónicos en entornos de aire limpio puede provocar daños a la población si el uso del producto refuerza el acto de vapear como algo socialmente aceptable o si el uso socava los beneficios de las políticas libres de humo.

Dado que la publicidad de estos productos resalta sus “bondades”, podríamos estar ante el caso de publicidad engañosa, que trata de estimular su consumo frente al cigarrillo de tabaco convencional. Esta circunstancia ha sido tenida en cuenta en la reciente Directiva 2014/40/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 3 de abril de 2014 relativa a la aproximación de las disposicio-

nes legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros en materia de fabricación, presentación y venta de los productos del tabaco y de los productos relacionados, que incluye los cigarrillos electrónicos en su ámbito de aplicación, al igual que el borrador del Real Decreto que la incorpora al ordenamiento jurídico español y que está actualmente en tramitación.

La creencia del usuario de que estos cigarrillos electrónicos son menos perjudiciales facilita una mayor intensidad del vapeo que en el caso del fumador convencional y aumenta la exposición al riesgo al aumentar tanto la frecuencia como la intensidad del vapeo. La publicidad de este producto favorece esta situación, y aunque faltan estudios en España sobre hábitos y percepciones de los usuarios de los cigarrillos electrónicos, los datos existentes sugieren la necesidad de controlar la información de la publicidad y el etiquetado, para proporcionar al consumidor una información veraz, comprensible y completa y evitar una percepción errónea sobre el uso del producto y sus consecuencias.

### 3. Definición y caracterización del producto

La Directiva 2014/40/UE define «cigarrillo electrónico como un producto, o cualquiera de sus componentes, incluidos un cartucho, un depósito y el dispositivo sin cartucho o depósito, que pueda utilizarse para el consumo de vapor que contenga nicotina a través de una boquilla. Los cigarrillos electrónicos pueden ser desechables o recargables mediante un envase de recarga y un depósito, o recargables con cartuchos de un solo uso».

Un cigarrillo/cigarro electrónico (también llamado «vaporizador electrónico» o «e- cigarette» se denomina en la normativa española como “dispositivo susceptible de liberación de nicotina”. El cigarrillo electrónico es diseñado para simular y sustituir el consumo de cigarrillos de tabaco tradicional. Su diseño puede imitar los cigarrillos o bien tener un aspecto totalmente diferente que no recuerda en absoluto a los cigarrillos de tabaco (tales como bolígrafos, lápices USB, etc.), como sucede con muchos de los dispositivos más modernos.

El cigarrillo electrónico está constituido fundamentalmente por tres partes: 1) un inhalador, 2) una cámara de vaporización y 3) una batería. Muchos cigarrillos electrónicos poseen también un indicador luminoso al final del cigarrillo que simula la lumbre de un cigarrillo de tabaco convencional cuando se succiona.



**Figura 1.** Partes de un cigarrillo electrónico.

El inhalador está compuesto por un cartucho o recambio que contiene una disolución cuyos principales ingredientes incluyen además de nicotina (existen dispositivos en los que no está presente), un humectante como el propilenglicol o agua, con o sin la adición de glicerina y diversos aromatizantes. La cámara de atomización está compuesta por una resistencia que se calienta entre 40 y 65 °C, pudiendo alcanzar temperaturas superiores en los atomizadores de tercera generación (Yamin et al., 2010). Cuando un usuario “vapea” con este tipo de cigarrillos electrónicos, un sensor detecta el flujo de aire, se enciende la luz indicadora y se pone en funcionamiento el atomizador, este calienta el líquido que contiene el cartucho evaporándolo. El vapor que se forma es el que se inhala, no existiendo corriente secundaria de humo.

Actualmente, existen tres tipos de dispositivos en el mercado:

- 1) Los llamados dispositivos de “primera generación”, antes mencionados, que imitan el tamaño y la apariencia de los cigarrillos de tabaco convencionales y generalmente son desechables.
- 2) Los de “segunda generación”, que presentan atomizadores con posibilidad de que el usuario los rellene con líquidos comerciales. Tienen con mayor batería y capacidad para cambiar la cabeza del atomizador, mientras se mantiene el cuerpo, reduciendo así el coste de operación.
- 3) Los dispositivos de “tercera generación”, también llamados “*Mod*” por su amplia posibilidad de modificación, constan de baterías de litio de gran capacidad con circuitos integrados que permiten a los usuarios modificar la potencia del atomizador para alcanzar mayores temperaturas, rellenar con líquidos comerciales o preparar sus propias mezclas (Farsalinos et al., 2014).

Los principales ingredientes activos que se encuentran en el etiquetado de los cigarrillos electrónicos son, además de la nicotina y el propilenglicol, la glicerina, y diversos aromatizantes.

La Administración de Alimentos y Medicamentos estadounidense (Food and Drug Administration (FDA)) indica que estos cigarrillos poseen sustancias en su composición, con comportamiento tóxico en este uso, como dietilenglicol (anticongelante) o compuestos carcinógenos como las nitrosaminas (FDA, 2009).

#### 4. Seguridad

Los criterios de seguridad para estos productos dependen de múltiples factores (OMS, 2014). Las diferencias en el voltaje de las baterías y los sistemas de circuitos pueden dar lugar a una considerable variabilidad en lo que respecta a la capacidad de los productos para calentar la solución y transformarla en un vapor y, por lo tanto, pueden afectar a la administración de nicotina y otros ingredientes activos y contribuir a la formación de sustancias tóxicas en las emisiones.

También, el comportamiento de los consumidores puede afectar a la absorción de nicotina, es el caso de la duración del vaporeo, el grado de inhalación y la frecuencia de uso. Sin embargo, mientras que en un cigarrillo de tabaco convencional una calada más rápida y profunda aumenta la administración de nicotina, en los cigarrillos electrónicos podría disminuirla debido al diseño para el enfriamiento del dispositivo calentador.

Además de las diferencias existentes entre los fabricantes, algunos consumidores modifican los productos para alterar la administración de nicotina y de otras drogas de abuso. Los productos

varían ampliamente en cuanto a la facilidad con que se pueden modificar y rellenar con sustancias distintas de las soluciones con nicotina.

Por todo ello, la toxicidad de los cigarrillos electrónicos varía dependiendo del diseño y tipo del cigarrillo, calidad y concentración de compuestos activos presentes en el líquido para ser vapeado, caracterización del vapor, método de fabricación y control de calidad empleado por el fabricante.

#### 4.1 Peligrosidad de las sustancias químicas

Es difícil hacer a priori una evaluación exhaustiva de la peligrosidad de los componentes o sustancias químicas activas, ya que actualmente no existe una reglamentación específica para los cigarrillos electrónicos que regule los contenidos de nicotina y otros productos tóxicos. La reciente Directiva 2014/40/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 3 de abril de 2014 relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros en materia de fabricación, presentación y venta de los productos del tabaco y de los productos relacionados, y el Real Decreto que la incorpore al ordenamiento jurídico español actualmente en tramitación, contribuirán a establecer un marco regulatorio específico para estos productos.

Si consideramos en primer lugar los ingredientes declarados en el etiquetado, dejando al margen la nicotina para un abordaje más exhaustivo, debemos señalar que algunos de ellos, como el propilenglicol, la glicerina y algunos aromatizantes, han sido aprobados para su uso en alimentos a unas determinadas concentraciones, pero eso no indica, en otros usos, que sean seguros para ser vapeados repetidamente.

- **Propilenglicol:** o propano 1,2, diol, es un excelente disolvente para muchas sustancias químicas orgánicas insolubles en agua. Es un líquido claro, incoloro, ligeramente viscoso y totalmente miscible con agua. Se utiliza, entre otras aplicaciones, como humectante en productos farmacéuticos, en los cigarrillos convencionales, en cosméticos y en desinfectantes. También se utiliza como aditivo alimentario (E-1520), como anticongelante y para hacer humo artificial.

La FDA ha determinado que el propilenglicol es “generalmente considerado como seguro” (GRAS, siglas en inglés *Generally Recognized As Safe*) para uso en alimentación, cosmética, y medicamentos. Según la Reglamentación 1994 OSHA *Hazard Communication Standard*; 29 CFR Part 1910.1200, el contacto del producto con los ojos puede causar ligera irritación y enrojecimiento, el contacto prolongado o reiterado puede provocar dermatitis e irritación en las vías respiratorias, entre otros efectos. Recomienda evitar el contacto directo con la piel y los ojos y la inhalación de neblinas de vapores (BASF-Hoja de Seguridad 1,2-PROPILENGLICOL USP. Versión: 2.0 (30054515/SDS\_COS\_US/ES). Fecha de revisión: 2015/02/19). Si bien la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de Estados Unidos ha determinado que no es necesario establecer un valor umbral límite (TLV) de exposición para el propilenglicol en ambientes de trabajo; la Asociación de Higiene Industrial de Estados Unidos recomienda una exposición máxima de ocho horas para una concentración total de vapor de 50 ppm o mg/m<sup>3</sup>.

A pesar de ser de uso aprobado y considerado seguro para consumo oral, los valores podrían ser totalmente diferentes por vía inhalatoria. Algunos estudios han mostrado efectos tóxicos a corto

plazo asociados con la exposición a este producto en espacios cerrados, relacionados con irritación de ojos, garganta y vías respiratorias (Wieslander et al, 2001; Moline et al., 2000). La irritación de estas vías implica un riesgo especialmente alto en personas con patologías relacionadas. A largo plazo la exposición a propilenglicol se ha asociado con un aumento del riesgo de asma en niños (Choi et al., 2010).

– Glicerina: o propano 1,2,3 triol, es un trialcohol de características y usos parecidos al propilenglicol. También se considera seguro para consumo oral pero eso no implica que lo sea para uso inhalatorio, de hecho, se han descrito dos casos de neumonía lipoidea relacionada con el vapor con glicerina de cigarrillos electrónicos (McCauley et al., 2012), uno de ellos en España publicado en prensa (Tardón, 2014).

Por otra parte, en cuanto a las **sustancias cancerígenas**, como se ha mencionado anteriormente, la FDA encontró en los cigarrillos electrónicos cantidades detectables de sustancias cancerígenas y tóxicas para los humanos que no se declaraban, como el dietilenglicol, N-nitrosaminas e impurezas específicas del tabaco potencialmente nocivas (anabasina, miosmina, y b-nicotirina) (Goniewicz et al., 2013). El dietilenglicol es una sustancia tóxica incluida como propelente, utilizada también como anticongelante en los coches. Otros autores han encontrado también pequeñas cantidades de nitrosaminas en los líquidos de los cigarrillos electrónicos, junto con formaldehído, acetaldehído y acroleína en diferentes cigarrillos electrónicos. Probablemente, el formaldehído y la acroleína se forman a partir de la combustión de la glicerina. La acroleína se puede absorber, y se ha encontrado un producto de su degradación en la orina de consumidores de cigarrillos electrónicos, aunque en menor medida que después de fumar cigarrillos convencionales (DKFZ, 2013).

El Instituto Francés de Consumo ha realizado un análisis de muestras de cigarrillos electrónicos y ha encontrado también sustancias cancerígenas (Institut National de la Consommation, 2013) entre ellas el níquel, en concentraciones superiores que en el humo de tabaco tradicional (Williams et al., 2013). También se ha determinado la presencia de partículas en el vapor producido por cigarrillos electrónicos cuyo rango de magnitud es similar al de los cigarrillos de tabaco convencionales, predominando las partículas ultrafinas (diámetro 100-200 nm) comparadas con las de mayor tamaño detectadas en el humo de cigarrillos. Sin embargo, los niveles generados son más bajos que en los cigarrillos de tabaco convencionales (Schripp et al., 2013).

En un estudio de Williams y colaboradores (2013) se evaluó si el líquido de inhalación y el vapor resultante contenían metales traza derivados de los componentes del cigarrillo eléctrico, identificando partículas de estaño tanto en el líquido del cartucho como en vapor. El vapor contenía partículas (tamaño >1 µm) de compuestos de estaño, plata, hierro, níquel, aluminio y silicato, y nanopartículas (tamaño 100 nm) de estaño, cromo y níquel, procedentes del filamento y de otras partes metálicas y de la fibra de vidrio empleados en los dispositivos. Las concentraciones de nueve de once metales analizados en el vapor fueron iguales o superiores a las correspondientes en el humo del cigarrillo de tabaco convencional. Muchos de los elementos identificados en el vapor pueden producir enfermedades respiratorias y algunos son citotóxicos. Estos autores concluyen que la presencia de partículas metálicas y silicatos en el vapor demuestra la necesidad de mejorar

la calidad y el control en el diseño y la producción, además de llevar a cabo estudios de evaluación del posible impacto de los vapores de los cigarrillos electrónicos en la salud de los usuarios y de los no fumadores expuestos de forma pasiva.

La posible citotoxicidad de algunos líquidos para cigarrillos electrónicos ha despertado inquietud respecto al riesgo de las mujeres embarazadas que utilizan dichos dispositivos o están expuestas a sus vapores (Bahl et al., 2012). La citotoxicidad se ha relacionado también con la concentración y el número de compuestos aromatizantes utilizados en el líquido de vapeado, encontrándose en el mercado una enorme variedad de aromas (frutas, menta, caramelo, etc.). Así mismo, en opinión de la Organización Mundial de la Salud los aromas parecidos a los de las golosinas podrían atraer a los jóvenes a probar los cigarrillos electrónicos y facilitar el desarrollo del tabaquismo (OMS, 2007).

Los estudios disponibles demuestran que, por lo general, el vapor contiene compuestos carcinógenos y otras sustancias tóxicas que se encuentran en el humo del tabaco, pero en niveles medios de 1 a 2 órdenes de magnitud inferiores al humo de tabaco tradicional, aunque superiores al de un inhalador de nicotina, utilizado como medicamento-dispositivo para dejar de fumar. En ciertos casos, se ha observado que el nivel de algunos de esos agentes carcinógenos, entre ellos el formaldehído y otras sustancias tóxicas como la acroleína, es tan alto como el del humo producido por algunos cigarrillos (OMS 2010). Por lo que no se puede excluir que la utilización de cigarrillos electrónicos pueda aumentar el riesgo de cáncer u otras patologías, incluso si las sustancias tóxicas se presentan en pequeñas cantidades.

Por último, para la nicotina, en el siguiente apartado se considera específicamente la identificación y caracterización de la peligrosidad de este compuesto, y posteriormente se analizan la exposición y la caracterización del riesgo.

#### **4.2 Identificación y caracterización de la peligrosidad de la nicotina**

La nicotina o 3-[2-(N-metilpirrolidinil)] piridina, es un alcaloide que se encuentra de forma natural en el tabaco, principalmente en sus hojas. Las características tóxicas y adictivas de este alcaloide determinan un peligro conocido; tiene efectos negativos sobre: sistema nervioso central, sistema endocrino, sistema cardiovascular, aparato músculo-esquelético, sistema respiratorio, aparato gastrointestinal, metabolismo en general y desarrollo del feto. Lógicamente, estos efectos se desarrollarán potencialmente también al utilizar los cigarrillos electrónicos que contienen nicotina. Así, se ha mostrado que su uso incrementa la frecuencia cardíaca (Vansickel et al., 2013). Los niveles de nicotina en sangre aumentan cuando se utilizan cigarrillos electrónicos que contienen nicotina y, aunque estos productos parecen liberarla más lentamente y a menores niveles que los productos de tabaco convencionales, es posible que los consumidores experimentados generen mecanismos de inhalación compensatorios para aumentar la liberación de nicotina, como ya se ha señalado previamente. Los efectos farmacológicos a nivel cerebral de la nicotina se relacionan con la generación de dependencia. Los exfumadores que utilizan cigarrillos electrónicos y aquellos que consumen ambos productos, posiblemente mantienen su dependencia de la nicotina (WHO, 2012).

### 4.3 Exposición

En este apartado se evalúan la exposición a la nicotina través del “vapeado” del cigarrillo electrónico y la exposición no voluntaria en el ambiente. También se considera el riesgo derivado del contacto cutáneo, fundamentalmente en el momento de la recarga y la ingestión accidental del líquido de relleno por parte de los niños.

Las concentraciones de nicotina en los líquidos de los cigarrillos electrónicos pueden variar entre 0 y 26 mg/ml, incluso pueden contener más de 36 mg/ml, según las preferencias de los usuarios.

La exposición a grandes cantidades de nicotina es altamente tóxica, pudiendo ser letal. La nicotina se absorbe fácilmente a través de las mucosas y de la piel mientras que su biodisponibilidad por vía oral es baja.

Actualmente existen discrepancias cuando se establecen los valores de toxicidad para la nicotina. Así, la mayoría de los tratados de farmacología, bases de datos y fichas de seguridad del producto fijan la dosis letal para personas adultas entre 30-60 mg/persona (Mayer, 2014). Los 60 mg corresponderían a una  $DL_{50}$  oral de alrededor 0.8 mg/kg, dosis que es considerablemente más baja que los valores determinados en el laboratorio que están en un rango desde 3.3 (ratón) a más de 50 mg/kg (ratas) (Hayes, 1982).

Recientemente algunos autores (Mayer, 2014) establecen valores superiores de toxicidad. Se ha demostrado que el límite más bajo de niveles plasmáticos letales de nicotina para que aparezca una intoxicación clínica es de 4 mg/L de plasma. Considerando una biodisponibilidad oral del 20% y asumiendo una cinética lineal, la ingesta de una dosis de 60 mg/persona, cantidad que pueden llegar a tener algunos cartuchos, y que se correspondería aproximadamente con un fumado de 60 cigarrillos de tabaco convencionales, proporcionaría una concentración plasmática de nicotina de 0,18 mg/L, que supone una concentración, al menos 20 veces inferior, a los niveles plasmáticos mínimos letales. No se puede asegurar lo mismo para concentraciones superiores, que también existen y otras presentaciones. Para estos cálculos se ha considerado que cuando se fuma un cigarrillo de tabaco se capta aproximadamente 1 mg de nicotina (0,7 mg según el etiquetado de las cajetillas de tabaco y para ocho succiones de media/cigarrillo).

Además se considera que el límite más bajo que causa mortalidad de nicotina ingerida en adultos es de 510-1000 mg, lo que correspondería con un valor de  $DL_{50}$  oral de 6,5-13 mg/kg p.c. (dosis letal de una sustancia que resulta mortal para la mitad de los animales ensayados). Estos valores se han confirmado en perros que presentan una respuesta a la nicotina similar a la de humanos (Mayer, 2014).

En cuanto al riesgo del contenido de nicotina en los cigarrillos electrónicos comparado con los valores de los cigarrillos de tabaco convencionales, tanto los datos encontrados en la bibliografía como los que presenta a este Comité el Centro de Investigación y Control de la Calidad (CICC) [informe interno del INC-CICC (2011)]\*, muestran niveles de concentración muy bajos en comparación con los de los cigarrillos de tabaco convencionales.

\*Informe interno del INC-CICC (2011). Datos no publicados.

En este último informe (INC-CICC, 2011) el análisis cuantitativo de nicotina indica que las cantidades encontradas en el vapor que se produce al succionar el cigarrillo varían entre 0,15-1,91 mg/ cartucho o cigarrillo electrónico. Se analizaron 60 muestras de 3 marcas distintas.

Estos datos del informe INC-CICC, 2011 son unos valores altos, si se compara con los máximos permitidos por la regulación vigente para cigarrillos convencionales (<1mg de nicotina según el etiquetado en cajetillas (R.D. 1079/2002 de 18 octubre) pero no lo son tanto puesto que un cartucho o recambio de cigarrillo electrónico equivale, en las condiciones experimentales empleadas, a varios cigarrillos de tabaco convencionales.

En el informe referido del CICC del Instituto Nacional del Consumo (INC-CICC, 2011), actualmente CICC-AECOSAN, se observa que un cigarrillo convencional necesita una media de ocho succiones para ser consumido en su totalidad. Para consumir totalmente un cartucho o recambio de cigarrillo electrónico, con la máquina de fumar empleada y en las condiciones experimentales descritas, se necesita un mayor número de succiones, lo que en extrapolación correspondería a un mayor número de cigarrillos de tabaco convencionales.

En concreto, en dicho informe, la marca Nº 1 necesita 360 succiones/cartucho, la marca Nº 2 necesita, 220 succiones/cartucho y la marca Nº 3, 100 succiones/cartucho que se corresponderían con 45, 25 y 12.5 cigarrillos convencionales respectivamente si nos referimos a la media de ocho succiones por cigarrillo. Tomando en consideración la anterior relación del número de succiones/ cartucho y el número de cigarrillos a los que equivale un cartucho, los niveles de nicotina antes descritos de 0,15-1,91 mg/ cartucho o cigarrillo electrónico equivaldrían a unos valores de entre 0,003 y 0,153 mg/cigarrillo tabaco convencional.

En cualquier caso, ha de tenerse en cuenta que el método, bajo referencia ISO 4387:2000, que se utiliza para la determinación del contenido de nicotina y otras sustancias en el vapor implica el uso de una máquina de fumar diseñada para cigarrillos de tabaco convencionales y unos métodos analíticos de cromatografía de gases y espectrometría de masas, acreditados por ENAC en el CICC, que utilizan como matriz humo del tabaco de cigarrillos convencionales y no vapor procedente del vaporizado tras calentamiento por una resistencia, características particulares de este tipo de cigarrillos electrónicos. Por lo tanto, los datos obtenidos son resultado de “extrapolación” directa y deben ser valorados con precaución.

Las tablas a continuación, muestran los resultados del informe INC-CICC (2011).

Nº de cigarrillos/día	1	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Mg de nicotina/día	0,8	4	8	12	16	20	24	28	32	35	40	44	48

ml vapeados/día	mg/ml de nicotina contenidos en un cartucho																			
	36	30	28	26	24	22	20	18	16	14	12	10	9	7	6	5	4	3	2	1
1	45	38	35	33	30	28	25	23	20	18	15	13	11	9	8	6	5	4	3	1
1.5	68	56	53	49	45	41	38	34	30	26	23	19	17	13	11	9	8	6	4	2
2	90	75	70	65	60	55	50	45	40	35	30	25	23	18	15	13	10	8	5	3
2.5	113	94	88	81	75	69	63	56	50	44	38	31	28	22	19	16	13	9	6	3
3	135	113	105	98	90	83	75	68	60	53	45	38	34	26	23	19	15	11	8	4
3.5	158	131	123	114	105	96	88	79	70	61	53	44	39	31	26	22	18	13	9	4
4	180	150	140	130	120	110	100	90	80	70	60	50	45	35	30	25	20	15	10	5
4.5	203	169	158	146	135	124	113	101	90	79	68	56	51	39	34	28	23	17	11	6
5	225	188	175	163	150	138	125	113	100	88	75	63	56	44	38	31	25	19	13	6
5.5	248	206	193	179	165	151	138	124	110	96	83	69	62	48	42	34	28	21	14	7
6	270	225	210	195	180	165	150	135	120	105	90	75	68	53	45	38	30	23	15	8
6.5	293	244	228	211	195	179	163	146	130	114	98	81	73	57	49	41	33	24	16	8
7	315	263	245	228	210	193	175	158	140	123	105	88	79	61	53	44	35	26	18	9
7.5	338	281	263	244	225	206	188	169	150	131	113	94	84	66	56	47	38	28	19	9
8	360	300	280	260	240	220	200	180	160	140	120	100	90	70	60	50	40	30	20	10
8.5	383	319	298	276	255	234	213	191	170	149	128	106	96	74	64	53	43	32	21	11
9	405	338	315	293	270	248	225	203	180	158	135	113	101	79	68	56	45	34	23	11
9.5	428	356	333	309	285	261	238	214	190	166	143	119	107	83	71	59	48	36	24	12
10	450	375	350	325	300	275	250	225	200	175	150	125	113	88	75	63	50	38	25	13

Los mililitros que se pueden “vapear” al día se expresan en la columna de la izquierda y los mg/ml de nicotina que contiene el cartucho se expresan en la fila superior. La intersección del valor columna/fila, usando las equivalencias antes descritas, muestra el número total de cigarrillos convencionales a que equivalen los ml vapeados por día.

En la actualidad se está intentando poner a punto una máquina de fumar para vapeados de este tipo de cigarrillos electrónicos.

Es necesario considerar que, si bien comparado con los cigarrillos de tabaco convencionales, los cigarrillos electrónicos aportan menor cantidad de nicotina/vapeado, el problema asociado al riesgo de estos últimos es que se puede estar “vapeando” por un tiempo indefinido, mientras que un cigarrillo de tabaco convencional después de una serie de succiones (una media de 8) éste se agota.

Por lo tanto, en función de la concentración de nicotina de cada cartucho, de su volumen total y del número de vapeados, se podría llegar a alcanzar un alto contenido de nicotina en plasma de forma menos controlable y tóxica.

Por otra parte, es necesario considerar también los posibles riesgos derivados de la exposición indirecta de los no fumadores al vapor emitido por los cigarrillos electrónicos (nicotina y algunas sustancias tóxicas) en aire interior y especialmente en aquellos lugares públicos en que su uso no esté prohibido. Existen pocos estudios que evalúen la exposición pasiva a las emisiones producidas por estos dispositivos, además en algunos casos se han realizado utilizando condiciones de

exposición que no se ajustan a las condiciones reales. Los vapores emitidos, como ya se ha comentado, pueden contener nicotina y otras sustancias químicas que se alteran durante el proceso de calentamiento dando lugar a emisiones de otros componentes potencialmente tóxicos, tales como aldehídos, hidrocarburos aromáticos policíclicos y metales (Kuschner et al., 2011). Estas circunstancias hacen necesario considerar un nuevo modo de exposición que también deberá evaluarse adecuadamente.

El hecho de que los vapores exhalados contengan niveles medios de algunas sustancias tóxicas, nicotina y partículas ultrafinas en el aire más bajos que las emisiones del tabaco quemado no significa que esos niveles sean aceptables para las personas del entorno involuntariamente expuestas (Czogala et al., 2014; McAuley et al., 2012).

Además no está claro si esos niveles más bajos en los vapores exhalados se traducen en una menor exposición. Como se ha demostrado en el caso de la nicotina, donde a pesar de los niveles inferiores alcanzados en comparación con los del humo de tabaco tradicional emitido, los vapores exhalados de los cigarrillos electrónicos dan lugar a niveles similares de absorción, según se reflejan en los valores de nicotina detectados en plasma (Flouris et al., 2013). Este hecho se corrobora también con ciertos biomarcadores de exposición, como la cotinina que es el principal metabolito de la nicotina, por lo que su presencia en orina, saliva o sangre se utiliza como biomarcador específico de exposición (activa o pasiva) al humo del tabaco. Cuando se ha estudiado la exposición pasiva al vapor de los cigarrillos electrónicos frente a los convencionales, midiendo tanto los niveles de nicotina en aire como de cotinina en orina y saliva, se ha observado que aunque la concentración de nicotina es superior en espacios donde se fuman cigarrillos de tabaco convencionales que electrónicos, las concentraciones de cotinina en saliva y orina, son similares para ambos tipos de cigarrillos (Ballbè et al., 2014).

Es interesante resaltar la relación de los efectos observados tras la exposición a cigarrillos electrónicos en forma directa o a vapores de dichos cigarrillos en forma indirecta y que han sido detallados en la literatura (Callahan-Lyon, 2014):

- Sequedad de boca, irritación de la garganta y tos seca al inicio de su uso, disminuyendo con el uso prolongado
- No existe alteración en la frecuencia cardiaca, en el nivel de monóxido de carbono, ni en el nivel de nicotina plasmática
- Disminución del óxido nítrico exhalado, e incremento del ritmo respiratorio, similar al uso de cigarrillos de tabaco tradicionales
- No existe alteración en el recuento sanguíneo normal
- No existe alteración en la función pulmonar
- No existe alteración en la función cardiaca (medido por ecocardiograma)
- No existe alteración en los marcadores inflamatorios

Se debe considerar también la exposición por contacto cutáneo con los líquidos de los cigarrillos electrónicos, especialmente en el caso de que contengan nicotina debido a su elevada absorción por vía dérmica.

Finalmente, es necesario tener en cuenta el riesgo por ingestión accidental de los líquidos de los cigarrillos electrónicos por parte de los niños pequeños, que pueden resultar especialmente atractivos debido a sus aromas y sabores. La presentación más frecuente del líquido de relleno de los cigarrillos electrónicos es un vial de 5 mL, que para una concentración media de nicotina de 20 mg/ml supone una cantidad de 100 mg/vial, muy inferior al límite más bajo de niveles plasmáticos letales en adultos antes mencionado. Sin embargo esta concentración puede suponer un riesgo para los niños, en caso de una ingestión accidental del líquido de relleno, teniendo en cuenta la toxicidad de la nicotina (Cameron et al., 2013; Bassett et. al., 2014).

#### 4.4 Caracterización del riesgo

A efectos de riesgos para la salud debe considerarse por una parte el componente electrónico del cigarrillo, aun poco evaluado y que no es objeto de este informe, y el contenido de sustancias y mezclas en el interior del cartucho, por otra.

Con los datos disponibles hasta ahora es muy difícil evaluar de forma correcta el riesgo para la salud. Hay que tener en cuenta que muy pocos cigarrillos electrónicos de los actualmente comercializados han sido sometidos a una evaluación toxicológica. Además, no existe un consenso científico sobre los estudios apropiados que deben realizarse a efectos de la evaluación del riesgo sobre la salud.

A estas limitaciones hay que sumar la no menos importante, y previamente señalada, de no disponer de una máquina de fumar para “vapeados” acorde con las características de estos cigarrillos, considerando, entre otras cosas, el tipo de matriz a analizar, las partículas que se generan y la posible transformación de unos compuestos en otros tras el calentamiento, para, una vez conseguido, obtener datos más aproximados a la realidad y definir la normativa a aplicar.

A efectos de este informe científico, se ha considerado el riesgo que comporta la inhalación del “vapeado” del líquido contenido en el cartucho, la exposición de los no fumadores y de las poblaciones de más alto riesgo (lactantes, niños, mujeres embarazadas, ancianos y personas con patologías de distinta índole entre otras), al vapor generado por este tipo de cigarrillos y la posibilidad de la ingestión accidental especialmente por parte de niños tras la rotura del cartucho o la adicción a estos cigarrillos.

No está probada la seguridad de los cigarrillos electrónicos en base a la documentación disponible. Por su contenido en nicotina y otras sustancias tóxicas, los cigarrillos electrónicos pueden suponer un riesgo para el fumador y no deben ser usados en entornos con población de alto riesgo. Además de ser una vía de entrada al tabaquismo por parte de los jóvenes.

El contenido en nicotina puede presentar variaciones. Diversos estudios han puesto de manifiesto diferencias significativas (hasta del 90 %) entre la concentración de nicotina determinada en el líquido del cigarrillo electrónico y la declarada en el etiquetado, llegando incluso a detectarse nicotina en líquidos comercializados como “sin nicotina” (Goniewicz et al., 2013). Además, como ya se ha comentado, existe una gran variabilidad en la cantidad de nicotina y otras sustancias suministradas por vapeado en función de las características de los dispositivos y las condiciones de vapeo.

Así mismo, debe considerarse el riesgo a la exposición indirecta de los no fumadores, especialmente en las poblaciones de alto riesgo, a los vapores emitidos por los cigarrillos electrónicos (nicotina y algunas sustancias tóxicas) como fumadores pasivos en espacios cerrados (Callahan-Lyon, 2014).

La nicotina se absorbe fácilmente por la piel y por lo tanto se debe evitar entrar en contacto directo con el líquido de los cigarrillos electrónicos que la contengan.

La ingestión accidental de la solución de relleno de los cigarrillos electrónicos por parte de los niños supone un riesgo grave para la salud teniendo en cuenta la toxicidad y concentración de la nicotina en dichos líquidos, que puede alcanzar el límite más bajo de niveles plasmáticos letales señalados. Por lo que es importante extremar las precauciones de seguridad en su presentación y de almacenamiento de los líquidos que contengan nicotina, para mantenerlos fuera del alcance de los niños. Tanto los cigarrillos electrónicos como los envases de recarga deben presentar cierres de seguridad para niños.

Para futuras evaluaciones del riesgo es importante considerar, además de los ya mencionados biomarcadores de exposición, el riesgo de enfermedades, morbilidad y mortalidad, al comparar diferentes clases de productos de tabaco entre los usuarios y no- usuarios de tabaco, y, en todo caso, la evaluación de los efectos adversos a largo plazo sobre posibles daños celulares (modificaciones sobre el ciclo celular, estrés oxidativo, mutaciones en el DNA, etc.) de las células de la mucosa y de las vías respiratorias.

La mayor laguna es la falta de datos epidemiológicos, por una parte, a largo plazo sobre los efectos en la salud de las personas que utilizan cigarrillos electrónicos, y por otra sobre los efectos de la exposición total. La creencia de que los cigarrillos electrónicos son una alternativa más segura a los cigarrillos de tabaco tradicional aún no se ha validado científicamente, y la comercialización dirigida a personas jóvenes es especialmente preocupante. Varios sistemas de administración disponibles en el mercado permiten al usuario ajustar manualmente el voltaje y los niveles de nicotina, lo que introduce, como ya hemos comentado anteriormente, aún más variables en la evaluación del riesgo para la salud.

## 5. Marco regulatorio

### 5.1 Normativa aplicable

La Ley 28/2005, de 26 de diciembre, de medidas sanitarias frente al tabaquismo y reguladora de la venta, el suministro, el consumo y la publicidad de los productos del tabaco, no considera los cigarrillos electrónicos “productos del tabaco”, ya que reserva esta denominación a “los [productos] destinados a ser fumados, inhalados, chupados o masticados, que estén constituidos, aunque sólo sea en parte, por tabaco” (artículo 2.1, letra a). No obstante, desde la reforma de la Ley 28/2005, de 26 de diciembre, llevada a cabo mediante Ley 3/2014, de 27 de marzo, los cigarrillos electrónicos tienen la consideración de “dispositivos susceptibles de liberación de nicotina” (esta expresión se define en el artículo 2.1, letra f, de la Ley 28/2005, de 26 de diciembre, como “un producto, o cualquiera de sus componentes, incluidos los cartuchos y el dispositivo sin cartucho, que pueda utilizarse para el consumo de vapor que contenga nicotina a través de una boquilla”). Desde la entrada en vigor de

dicha reforma, las Disposiciones adicionales duodécima y decimotercera de esa disposición limitan los lugares de utilización (o consumo) y venta de estos dispositivos, y restringen su publicidad. Con relación a su contenido, los cigarrillos electrónicos deben cumplir las siguientes disposiciones nacionales y de la Unión Europea sobre mezclas:

- Real Decreto 363/1995, de 10 de marzo, por el que se aprueba el Reglamento sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas;
- Real Decreto 255/2003, de 28 de febrero, por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos;
- Real Decreto 717/2010, de 28 de mayo, por el que se modifican el Real Decreto 363/1995, de 10 de marzo, por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas y el Real Decreto 255/2003, de 28 de febrero, por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos;
- 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;
- Reglamento (CE) N° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de diciembre de 2006, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, se modifica la Directiva 1999/45/CE y se derogan el Reglamento (CEE) N° 793/93 del Consejo y el Reglamento (CE) N° 1488/94 de la Comisión así como la Directiva 76/769/CEE del Consejo y las Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE y 2000/21/CE de la Comisión.

Conviene poner de relieve, con relación al Reglamento (CE) N° 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, que el artículo 52 contempla la posibilidad de que los Estados miembros adopten individualmente medidas provisionales cuando tengan razones justificadas para considerar que una sustancia o mezcla, aun cumpliendo lo dispuesto en el Reglamento, constituye un riesgo grave para la salud humana o para el medio ambiente. Estas medidas tienen que notificarse a la Comisión para que, en el plazo de 60 días, las autorice u ordene su revocación.

En virtud de ese precepto, los Países Bajos han adoptado una medida provisional consistente en obligar a los productores a incorporar cierres de seguridad para niños en los cigarrillos electrónicos y los envases de recarga, exigencia que va más allá de lo dispuesto en el Reglamento (CE) n° 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo. La Comisión autorizó esta medida, tras su notificación por los Países Bajos, a través de la Decisión de Ejecución (UE) 2015/744, de 8 de mayo de 2015. Se trata de una autorización temporal, que permanecerá en vigor hasta que el Estado miembro apruebe las medidas de transposición de la Directiva 2014/40/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, o expire el plazo para dicha transposición (19 de mayo de 2016), ya que esta Directiva establece una medida similar en el artículo 20.

En materia de etiquetado, la Disposición adicional 12ª de la Ley 28/2005, de 26 de diciembre, declara aplicable el artículo 3, apartados 2 y 3, a los dispositivos susceptibles de liberación de nicotina

y productos similares. El artículo 3, apartado 2, establece que “en el empaquetado de los productos del tabaco deberá incluirse una referencia expresa a la prohibición de su venta a menores de dieciocho años”. La utilización en el precepto de la expresión “productos del tabaco” suscita dudas sobre su aplicabilidad a los dispositivos susceptibles de liberación de nicotina.

La normativa específica sobre etiquetado establecida en el Real Decreto 1079/2002, de 18 de octubre, por el que se regulan los contenidos máximos de nicotina, alquitrán y monóxido de carbono de los cigarrillos, el etiquetado de los productos del tabaco, así como las medidas relativas a ingredientes y denominaciones de los productos del tabaco, modificado por Real Decreto 639/2010 de 14 de mayo, sólo se aplica a los productos del tabaco. Por lo tanto, los cigarrillos electrónicos quedan fuera de su ámbito de aplicación y, a falta de otra normativa específica, el etiquetado de éstos se regirá por lo dispuesto en el Reglamento (CE) N° 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre mezclas, y en el Real Decreto 1468/1988, de 2 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de etiquetado, presentación y publicidad de los productos industriales destinados a su venta directa a los consumidores y usuarios.

## **5.2 La Directiva 2014/40/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 3 de abril de 2014 y su transposición al Derecho español**

(Esta directiva está en proceso de transposición)

La Directiva 2014/40/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 3 de abril de 2014, establece normas de armonización a escala de la Unión Europea sobre “la comercialización y el etiquetado de determinados productos relacionados con los productos del tabaco; en concreto los cigarrillos electrónicos y los envases de recarga” (artículo 1, letra f) siempre que estos últimos productos no estén sujetos a un requisito de autorización en virtud de la Directiva 2001/83/CE, sobre medicamentos, o a los requisitos establecidos en la Directiva 93/42/CEE, sobre productos sanitarios (artículo 20, apartado 2).

En particular, la Directiva regula pormenorizadamente, en el artículo 20, aspectos de los cigarrillos electrónicos y los envases de recarga relativos a su comercialización, composición, información que debe acompañar al producto, etiquetado y publicidad. Asimismo, impone a los fabricantes e importadores la obligación de elaborar determinada información y ponerla a disposición de las autoridades públicas.

Por lo que se refiere a la comercialización, la Directiva obliga a los fabricantes e importadores de cigarrillos electrónicos y envases de recarga a notificar a las autoridades competentes de los Estados miembros, con una antelación de 6 meses, todos los productos que pretenden comercializar. La notificación debe incluir la información que se detalla en la Directiva, entre la que se incluye “los datos toxicológicos acerca de los ingredientes y emisiones del producto, incluso sometidos a calentamiento, mencionándose, en particular, sus efectos sobre la salud de los consumidores y teniendo en cuenta, entre otras cosas, su posible efecto adictivo”.

Con relación a la composición de los envases de recarga, la Directiva dedica una especial atención a regular el ingrediente de la nicotina. También, prohíbe que el líquido que contiene la nicotina contenga los siguientes aditivos:

- Vitaminas y otros aditivos que creen la impresión de que un producto del tabaco reporta beneficios para la salud o reduce los riesgos para la misma;
- cafeína y taurina y otros aditivos y compuestos estimulantes asociados con la energía y la vitalidad;
- aditivos con propiedades colorantes durante la combustión;
- aditivos que tengan propiedades CMR sin combustión.

No se regula la presencia en los cartuchos de glicerina o de propilenglicol.

Asimismo, la Directiva establece que “los Estados miembros garantizarán [...] que en la fabricación del líquido que contiene la nicotina se usen solo ingredientes de gran pureza” y “que, con excepción de la nicotina, en el líquido que contiene la nicotina se usen solo ingredientes que no sean peligrosos para la salud humana, tanto en forma caliente como fría”.

La Directiva deja a los Estados miembros la responsabilidad de adoptar normas sobre aromas (vid. considerando N° 47 de la Directiva) y les invita, al regular la comercialización de productos aromatizados, a ser muy conscientes del atractivo potencial de dichos productos para los jóvenes y los no fumadores. También les recuerda que toda prohibición de tales productos aromatizados debe estar justificada y notificarse de conformidad con la Directiva 98/34/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de junio de 1998, por la que se establece un procedimiento de información en materia de las normas y reglamentaciones técnicas”.

En el artículo 20, apartado 4, de la Directiva se establece la obligación de los Estados miembros de garantizar que los cigarrillos electrónicos muestren información suficiente y adecuada acerca de su utilización segura, con objeto de proteger la salud y la seguridad humanas, contengan advertencias sanitarias adecuadas, y no incluyan ningún elemento o característica que pueda inducir a error.

En concreto, los Estados deben garantizar que las unidades de envasado de cigarrillos electrónicos y de envases de recarga incluyen un folleto con instrucciones de información sobre los siguientes aspectos:

- El uso y el almacenamiento, incluidos la advertencia de que el producto no se recomienda para consumo de jóvenes y no fumadores;
- las contraindicaciones;
- las advertencias a grupos de riesgo específicos;
- los posibles efectos adversos;
- la adicción y toxicidad;
- los datos de contacto del fabricante o importador y de una persona física o jurídica en la Unión;

Asimismo, los Estados miembros deben garantizar que las unidades de envasado así como todo embalaje exterior de cigarrillos electrónicos y de envases de recarga incluyan cierta información sobre los ingredientes y lleven una de las dos advertencias sanitarias que se enuncian en la Directiva sobre la presencia de nicotina en el producto.

La Directiva tampoco armoniza las normas sobre entornos libres de humo, ni sobre disposiciones nacionales de compraventa o publicidad, o sobre extensión de marca, ni introduce un límite de edad para los cigarrillos electrónicos o envases de recarga.

En el artículo 20, apartado 6, se autoriza a los Estados miembros a prohibir la venta a distancia transfronteriza de cigarrillos electrónicos y envases de recarga a los consumidores. Los Estados miembros que no prohíban dichas ventas deberán exigir a los minoristas que las hagan registrarse ante las autoridades del Estado miembro en el que se sitúe el establecimiento y del Estado miembro de residencia del cliente potencial, así como a disponer de un sistema que les permita verificar la edad del consumidor que realiza la compra.

Finalmente, recientemente, se ha aprobado la Decisión de Ejecución (UE) 2016/586, de la Comisión, de 14 de abril de 2016, relativa a las normas técnicas para el mecanismo de recarga de los cigarrillos electrónicos.

## Conclusiones

Los cigarrillos electrónicos generan riesgos para la salud.

1. A corto plazo, se han observado efectos adversos similares a aquellos asociados al humo del tabaco: inflamación de boca y garganta, náuseas, vómitos y tos.
2. Para los componentes mayoritarios en los líquidos de los cartuchos de los cigarrillos electrónicos, propilenglicol y glicerina, a pesar de ser considerados como seguros y aprobados para el consumo en alimentación, no está demostrada su inocuidad por la repetida inhalación a las temperaturas alcanzadas en los dispositivos electrónicos. Otras sustancias contenidas en el líquido de los cartuchos no tóxicas per se, pueden serlo en el vapor del fumado, incluso podrían generar otras sustancias, aun no detectadas, producto de su degradación tras el calentamiento y que pudieran ser tóxicas.
3. Se han detectado sustancias aromatizantes, cancerígenas, metales pesados y otros productos químicos en el líquido de los cartuchos de los cigarrillos electrónicos. Algunas de estas sustancias son potencialmente peligrosas o tóxicas cuando son vapeadas tras su calentamiento.
4. Se han evidenciado, además, sustancias que no se identifican en el etiquetado o aparecen en cantidad distinta a la informada, lo que prueba unos deficientes sistemas de calidad en la producción que, en consecuencia, generan mayores riesgos para la salud derivados de su uso.
5. El vapor que se genera al ambiente contiene, entre otros productos, propilenglicol, nicotina y sustancias cancerígenas que contaminan los espacios cerrados, con los consecuentes riesgos por exposición pasiva para poblaciones vulnerables de alto riesgo (lactantes, niños, mujeres embarazadas, ancianos y patologías de distinta índole).
6. Teniendo en cuenta que no hay una máquina específica de fumar cigarrillos electrónicos que permita evaluar las concentraciones de nicotina, el enfoque de la extrapolación de los datos obtenidos utilizando una máquina de fumar convencional y para una pequeña muestra, parecen indicar que la media del contenido por succión de este alcaloide en los cigarrillos

electrónicos es 10 veces inferior al contenido máximo admitido para los cigarrillos de tabaco convencionales.

7. La concentración plasmática de nicotina obtenida tras el vapeado de estos cigarrillos está muy por debajo del límite más bajo de niveles plasmáticos letales para la nicotina en el hombre.
8. La concentración de nicotina varía de unos cartuchos a otros y puede resultar altamente tóxica si se ingiere directamente el líquido. Este hecho genera un riesgo grave para la salud en el caso de una ingesta accidental por parte de la población infantil, y se vería incrementado por la ausencia de advertencias de seguridad que informaran del riesgo para los niños y de la conveniencia de mantener el producto fuera de su alcance; y por el hecho de que el cigarrillo electrónico, o su envase de recarga, carecieran del correspondiente cierre de seguridad para niños. Igualmente, los mecanismos de recarga presentan un riesgo por contacto cutáneo o ingestión accidental de dichos líquidos.
9. No se ha demostrado la eficacia de los cigarrillos electrónicos como ayuda para dejar de fumar. Se podría reducir el deseo de fumar y otros síntomas característicos del abandono, aunque algunos fumadores podrían cambiar temporalmente el consumo de tabaco por estos productos sin conseguir el cese total.
10. Potencialmente, los cigarrillos electrónicos podrían actuar en el mantenimiento o iniciación de la adicción a la nicotina, especialmente entre la población más joven.
11. La exposición al riesgo aumenta por los hábitos de los usuarios de cigarrillos electrónicos, al aumentar la frecuencia de vapeado y la intensidad del mismo.
12. La publicidad engañosa sobre los cigarrillos electrónicos y sus consecuencias sobre la salud es susceptible de incitar a un consumo de este producto, a pesar de sus riesgos efectivos para la salud.
13. El cumplimiento de las prescripciones previstas en la Directiva 2014/40/UE asegura un nivel de seguridad para los consumidores mucho más elevado en estos dispositivos. Este nivel de seguridad quedará consolidado en la transposición de la Directiva al ordenamiento jurídico interno del Estado. La propuesta para dicha transposición ha sido elaborada por el MSSSI.

## Recomendaciones

En base a los estudios disponibles, para poder evaluar adecuadamente el riesgo sobre la salud por el uso de los cigarrillos electrónicos, por parte de los diferentes actores públicos y privados, se debería:

1. Realizar más estudios que determinen la composición, las medidas de control de calidad en la fabricación, cantidad y características de los compuestos químicos incluidos en los cartuchos.
2. Definir el método de producción del vapor, los posibles productos para remplazar a la nicotina, los biomarcadores y los parámetros que permitan estudiar la viabilidad de las células de la mucosa y de vías respiratorias (cambios en el ciclo celular, daño en el DNA, estrés oxidativo, etc.) que estén en contacto con el vapor del vapeado.
3. Desarrollar estudios a largo plazo que demuestren si el uso de estos cigarrillos es eficaz o no para tratar la adicción al tabaco, y para conocer los efectos crónicos de índole toxicológica de la exposición a los cigarrillos electrónicos.

4. Llevar a cabo estudios epidemiológicos que tengan en cuenta los efectos sobre la salud del uso de los cigarrillos electrónicos en especial para poblaciones de alto riesgo (lactantes, niños, mujeres embarazadas, ancianos y patologías de distinta índole).
5. Realizar pruebas en máquinas de fumar que permitan obtener unos resultados más ajustados con el método de vapeado propio de este producto.
6. Llevar a cabo estudios sobre los efectos del consumo de glicerina y de propilenglicol por vía inhalatoria y, en función de sus resultados, adaptar la normativa.
7. Profundizar, mediante estudios, en los efectos de la diferencia de voltaje y los sistemas de circuitos sobre la administración de los distintos ingredientes y la posibilidad de formación de nuevas sustancias tóxicas.
8. Realizar un mayor control sobre la publicidad de los cigarrillos electrónicos para evitar información engañosa, incompleta o ambigua.

## Referencias

- Bahl, V., Lin, S., Xu, N., Davis, B. y Wang, Y. (2012). Comparison of electronic cigarette refill fluid cytotoxicity using embryonic and adult models. *Reproductive Toxicology*, 34 (4), pp: 529-537.
- Ballbè, M., Martínez-Sánchez, J.M., Sureda, X., Fu, M., Pérez-Ortuño, R., Pascual, J.A., Saltó, E. y Fernández, E., (2014). Cigarettes vs. e-cigarettes: Passive exposure at home measured by means of airborne marker and biomarkers. *Environmental Research*, 135, pp: 76-80.
- Bassett, R.A, Osterhoudt, K y Brabazon, T., (2014). Nicotine Poisoning in an Infant. *New England Journal of Medicine*, 370, pp: 2249-2250.
- Callahan-Lyon, P., (2014). Electronic cigarettes: human health effects. *Tobacco Control*, 23, Supplement 2, pp: ii36-ii40.
- Cameron, J.M., Howell, D.N., White, J.R., Andrenyak, D.M., Layton, M.E. y Roll, J.M. (2013). Variable and potentially fatal amounts of nicotine in e-cigarette nicotine solutions. *Tobacco Control*, 23(1), pp: 77-78.
- Choi, H., Schmidbauer, N., Sundell, J., Hasselgren, M., Spengler, J. y Bornehag, C.G., (2010). Common household chemicals and the allergy risks in pre-school age children. *PLoS ONE*, 6(6), doi:10.1371
- Czogala, J.L., Goniewicz, M.L., Fidelus, B., Zielinska-Danch, W., Travers, M.J. y Sobczak, A., (2014). Secondhand exposure to vapors from electronic cigarettes. *Nicotine Tobacco Research*, 16(6), pp: 655-62.
- DKFZ. German Cancer Research Center (DKFZ). (2013). Electronic Cigarettes-An Overview. *Red Series Tobacco Prevention and Tobacco Control*, 19, pp: 1-38
- Farsalinos, K.E. y Polosa, R., (2014). Safety evaluation and risk assessment of electronic cigarettes as tobacco cigarette substitutes: a systematic review. *Therapeutic Advances in Drug Safety*, 5(2), pp: 67-86.
- EU. European Union (EU). Comunicaciones procedentes de las Instituciones, Órganos y Organismos de la Unión Europea. Diario Oficial de la Unión Europea C 10 E de fecha 14/12/2011. Parlamento Europeo. Preguntas escritas con respuesta. P- 6535/09 (FR) de Frédérique Ries (ALDE) a la Comisión (22 de diciembre de 2009). Asunto: Legislación futura sobre los cigarrillos electrónicos. Respuesta de la Comisión (28 de enero de 2010)
- FDA. Food and Drug Administration (FDA). News release July 22, (2009). FDA and Public Health Experts Warn About Electronic Cigarettes. (<http://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm173222.htm>)
- Flouris, A.D., Chorti, M.S., Poulitani, K.P., Jamurtas, A.Z., Kostikas K, y Tzatzarakis, M.N., (2013). Acute impact of active and passive electronic cigarette smoking on serum cotinine and lung function. *Inhalation Toxicology*, 25(2), pp: 91-101.
- Goniewicz, M.L., Knysak, J., Gawron, M., Kosmider, L., Sobczak, A. y Kurek, J., (2014). Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes. *Tobacco Control*, 23(2), pp: 133-139

- Goniewicz, M.L., Kuma, T., Gawron, M., Knysak, J. y Kosmider, L., (2013). Nicotine levels in electronic cigarettes. *Nicotine & Tobacco Research*, 15, pp: 158–66.
- Grana, R.A y Ling, L., (2014). Smoking Revolution. A content analysis of electronic cigarette retail websites. *American Journal of Preventive Medicine*, 46(4), pp: 395-403.
- Grana R, Benowitz N y Glantz SA., (2014). Background Paper on E-cigarettes (Electronic Nicotine Delivery Systems). Center for Tobacco Control Research and Education, University of California San Francisco. WHO Collaborating Center on Tobacco Control. Series: WHO Tobacco Control Papers. (<http://escholarship.org/uc/item/13p2b72n>).
- IPCS INCHEM. International Programme on Chemical Safety - Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. *World Health Organization (WHO)*. Nicotine (PIM), 06-15-15, (<http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/nicotine.htm>).
- Nicotine (ICSC 0519), 06-15-15, (<http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0519.htm>).
- Kuschner, W.G., Reddy, S., Mehrotra, N. y Paintal, HS., (2011). Electronic cigarettes and thirdhand tobacco smoke: two emerging health care challenges for the primary care provider. *International Journal of General Medicine*, 4, pp: 115-20.
- Martínez-Sánchez, J.M., Fu, M., Martín-Sánchez, J.C., Ballbè, M., Saltó, E. y Fernández, E., (2015). Perception of electronic cigarettes in the general population: does their usefulness outweigh their risks?. *BMJ Open*, 5(e 009218) pp: 1-7
- Mayer, B., (2014). How much nicotine kills a human? Tracing back the generally accepted lethal dose to dubious self-experiments in the nineteenth century. *Archives of Toxicology*, 88 (1), pp: 5-7.
- McAuley, T.R., Hopke, P.K., Zhao, J. y Babaian, S., (2012). Comparison of the effects of e-cigarette vapor and cigarette smoke on indoor air quality. *Inhalation Toxicology*, 24(12), pp: 850-857
- McCauley, L., Markin, C. y Hosmer, D., (2012). An unexpected consequence of electronic cigarette use. *Official journal of the American College of Chest Physicians*, CHEST, 141(4), pp: 1110-1113.
- Moline, J.M., Golden, A.L., Highland, J.H., Wilmarth, K.R y Kao, A.S., (2000). Health effects evaluation of theatrical smoke, haze and pyrotechnics. Informe Final, ([www.actorsequity.org/docs/safesan/finalreport.pdf](http://www.actorsequity.org/docs/safesan/finalreport.pdf)).
- MSSSI. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSSSI), (2014). Informe sobre los cigarrillos electrónicos: situación actual, evidencia disponible y regulación. Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación. (<https://www.msssi.gob.es/ciudadanos/proteccionSalud/tabaco/docs/InformeCigarrilloselectronicos.pdf>).
- N'Sondé, V. Institut National de la Consomation (INC), (2013). Pas si inoffensive, la cigarette électronique. 60 Millions de consommateurs, N° 485, septiembre, 2013.
- OMS. Organización Mundial de la Salud (OMS). Conferencia de las Partes en el Convenio Marco de la OMS para el Control del Tabaco (FCTC), sexta reunión, 2014. FCTC/COP/6/10
- Schripp, T., Markewitz, D., Hued, E. y Salt hammer, T., (2013). Does e-cigarette consumption cause passive vaping? *Indoor Air*, 23(1), pp: 25–31.
- Tardón, L., (2014). Artículo periodístico: Diagnostican el primer caso de neumonía por 'vapear'. Diario El Mundo (España), fecha: 13/03/2014. Sección Salud. <http://www.elmundo.es/salud/2014/03/13/5321d3d0ca4741eb4f8b4576.html>
- Vansickel, A.R. y Eissenberg, T., (2013). Electronic cigarettes: effective nicotine delivery after acute administration. *Nicotine & Tobacco Research*, 15(1), pp: 267-270.
- WHO. World Health Organization (WHO), (2007). The scientific basis of tobacco product regulation: a WHO Study Group on Tobacco Product Regulation report. Candy-flavoured tobacco products: research needs and regulatory recommendations. WHO technical report series, N° 945, pp: 25-42.
- WHO. World Health Organization (WHO), (2012). Electronic nicotine delivery systems, including electronic cigarettes. Report by the Convention Secretariat, Fifth sesión, FCTC/COP/5/13.

- Wieslander, G., Norbäck, D. y Lindgren, T., (2001). Experimental exposure to propylene glycol mist in aviation emergency training: acute ocular and respiratory effects. *Occupational and Environmental Medicine*, 58(10), pp: 649-655.
- Williams M, Villarreal A, Bozhilov K, Lin S y Talbot P., (2013). Metal and silicate particles including nanoparticles are present in electronic cigarette cartomizer fluid and vapor. *PLoS ONE*, 8(3), doi:10.1371.
- Yamin, C.K.L. Bitton, A. y Bates, D.W., 2010. E-cigarettes: a rapidly growing Internet phenomenon. *Annals of Internal Medicine*, 153(9), pp: 607-609

## Legislación

- Ley 28/2005, de 26 de diciembre, de medidas sanitarias frente al tabaquismo y reguladora de la venta, el suministro, el consumo y la publicidad de los productos del tabaco, BOE núm. 309, de 27 de diciembre de 2005.
- Ley 3/2014, de 27 de marzo, por la que se modifica el texto refundido de la Ley General para la Defensa de los Consumidores y Usuarios y otras leyes complementarias, aprobado por el Real Decreto Legislativo 1/2007, de 16 de noviembre, BOE núm. 76, de 28 de marzo de 2014 (corrección de errores en BOE núm. 117, de 14 de mayo de 2014).
- Ley 1/2016, de 7 de abril, de atención integral de adicciones y drogodependencias del País Vasco. BOE núm. 105, de 2 de mayo de 2016.
- Real Decreto 363/1995, de 10 de marzo, por el que se aprueba el Reglamento sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas, BOE núm. 133, de 5 de junio de 1995.
- Real Decreto 255/2003, de 28 de febrero, por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos, BOE núm. 54, de 4 de marzo de 2003.
- Real Decreto 717/2010, de 28 de mayo, por el que se modifican el Real Decreto 363/1995, de 10 de marzo, por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas y el Real Decreto 255/2003, de 28 de febrero, por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos, BOE núm. 139, de 8 de junio de 2010.
- Real Decreto 1079/2002, de 18 de octubre, por el que se regulan los contenidos máximos de nicotina, alquitrán y monóxido de carbono de los cigarrillos, el etiquetado de los productos del tabaco, así como las medidas relativas a ingredientes y denominaciones de los productos del tabaco, BOE núm. 251, de 19 de octubre 2002.
- Real Decreto 639/2010, de 14 de mayo, por el que se modifica el Real Decreto 1079/2002, de 18 de octubre, por el que se regulan los contenidos máximos de nicotina, alquitrán y monóxido de carbono de los cigarrillos, el etiquetado de los productos del tabaco, así como las medidas relativas a ingredientes y denominaciones de los productos del tabaco, BOE núm. 135, de 3 de junio de 2010.
- Real Decreto 1468/1988, de 2 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de etiquetado, presentación y publicidad de los productos industriales destinados a su venta directa a los consumidores y usuarios, BOE núm. 294, de 8 de diciembre de 1988.
- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSSSI). Proyecto de Real Decreto por el que se regulan la fabricación, presentación y venta de los productos del tabaco y los productos relacionados, disponible en <http://www.msssi.gob.es/normativa/docs/Rdtabaco.pdf>.
- Reglamento (CE) N° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de diciembre de 2006, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, se modifica la Directiva 1999/45/CE y se derogan el Reglamento (CEE) N° 793/93 del Consejo y el Reglamento (CE) N° 1488/94 de la Comisión así como la Directiva 76/769/CEE del Consejo y las Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE y 2000/21/CE de la Comisión. DOUE de 29 de mayo de 2007, N° L 136, pg. 3.
- 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) no 1907/2006. DOUE de 31 de diciembre de 2008, N° L 353, pg. 1.

Decisión de Ejecución (UE) 2015/744, de 8 de mayo de 2015, por la que se autoriza la medida provisional adoptada por los Países Bajos con arreglo al artículo 52 del Reglamento (CE) N° 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, en relación con requisitos adicionales de envasado y etiquetado para los cigarrillos electrónicos que contienen nicotina y para los envases de recarga. DOUE de 9 de mayo de 2015, N° L 118, pg. 8.

Decisión de Ejecución (UE) 2016/586 de la Comisión, de 14 de abril de 2016, relativa a las normas técnicas para el mecanismo de recarga de los cigarrillos electrónicos. DOUE L 101/15, de 16 de abril de 2016).

Directiva 93/42/CEE del Consejo, de 14 de junio de 1993, relativa a los productos sanitarios. DOCE de 12 de julio de 1993, N° L 169, pg. 1.

Directiva 98/34/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de junio de 1998, por la que se establece un procedimiento de información en materia de las normas y reglamentaciones técnicas. DOCE de 21 de julio de 1998, N° L 204, pg. 37.

Directiva 2001/83/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de noviembre de 2001, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano. DOCE de 28 de noviembre de 2001, N° L 311, pg. 67.

Directiva 2014/40/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 3 de abril de 2014 relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros en materia de fabricación, presentación y venta de los productos del tabaco y de los productos relacionados. DOUE de 29 de abril de 2014, N° L 127, pg. 1.



---

Si desea citar un Informe del Comité Científico de la AECOSAN en una publicación científica, le sugerimos que siga este modelo, adaptándolo al estilo de citación requerido por la publicación de destino:

Ferrús, M.A., Barat, J.M., Conchello, M.P., Guix, S., Palop, A., Santos, J.A., Herrera, A., Martín de Santos, M.R. y Martínez, A. Grupo de trabajo (2015). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre los riesgos microbiológicos asociados al consumo de leche cruda y productos lácteos elaborados a base de leche cruda. *Revista del Comité Científico de la AECOSAN*, 21, pp: 45-78.

Abreviatura revista: Rev. Com. Cient. AECOSAN



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES  
E IGUALDAD

**aecosan**  
agencia española  
de consumo,  
seguridad alimentaria y nutrición