

Metodología científica y nuevas perspectivas de la evaluación de riesgos de sustancias químicas en sanidad ambiental

Autores: Noelia Domínguez Morueco, Ana Fernández Agudo, María del Carmen González Caballero y José Vicente Tarazona Lafarga



Metodología científica y nuevas perspectivas de la evaluación de riesgos de sustancias químicas en sanidad ambiental



Instituto de Salud Carlos III

Afiliación: Unidad de Evaluación de Riesgos,
Centro Nacional de Sanidad Ambiental (CNSA),
Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).
Ctra. Majadahonda - Pozuelo Km. 2.2
CP. 28220. Majadahonda (Madrid), España.



Palabras clave: Evaluación de Riesgos (ER), sustancias químicas, salud pública, sanidad ambiental, marco regulatorio de la ER, riesgo, peligro, Evaluación de Riesgos de Nueva Generación (NGRA), Nuevas Aproximaciones Metodológicas (NAMs), concepto "Una Salud". Conceptualización y redacción de la guía: "Los autores declaran que han contribuido de manera equitativa a la conceptualización y redacción de este trabajo."

Diseño de identidad visual y maquetación de la guía: Noelia Domínguez Morueco.

Diseño de la portada de la guía: Noelia Domínguez Morueco y María Fuentes Andión.

Publicación incluida en el programa editorial del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades

Catálogo general de publicaciones oficiales:

<https://cpage.mpr.gob.es/>

Para obtener este informe de forma gratuita en Internet:

<https://hdl.handle.net/20.500.12105/27371>



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

Edita: Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades

NIPO pdf: 156260043

NIPO papel: 15626007X

Depósito Legal: M-10572-2026

Diseño y maquetación: Editorial MIC

Autores: Noelia Domínguez Morueco, Ana Fernández Agudo, María del Carmen González Caballero, José Vicente Tarazona Lafarga

Cita sugerida: Domínguez-Morueco, N., Fernández-Agudo, A., González-Caballero, M.C., Tarazona, J.V. (2026). *Metodología científica y nuevas perspectivas de la evaluación de riesgos de sustancias químicas en sanidad ambiental*. Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

Prólogo

La evaluación de riesgos de las sustancias químicas constituye uno de los pilares fundamentales de la Sanidad Ambiental y de la protección de la Salud Pública. En un contexto marcado por la globalización, la innovación tecnológica, la creciente complejidad de las exposiciones ambientales, y la emergencia de nuevos riesgos ambientales, resulta imprescindible seguir un abordaje integrador, que apoye el concepto de “One Health”, y disponer de metodologías sólidas, actualizadas y basadas en la evidencia científica disponible.

Desde el Centro Nacional de Sanidad Ambiental (CNSA), como centro de referencia del Instituto de Salud Carlos III en el ámbito de la vigilancia, investigación, evaluación y control de los riesgos ambientales para la salud, entendemos que el avance del conocimiento científico debe ir acompañado de herramientas capaces de responder a los desafíos actuales y futuros. Este libro surge precisamente de esa necesidad: ofrecer una visión integrada y actualizada de la metodología científica aplicada a la evaluación de riesgos de sustancias químicas, incluyendo aproximaciones tradicionales e incorporando nuevas perspectivas que reflejan la evolución del conocimiento y el futuro de los enfoques regulatorios y técnicos.

Nos encontramos en un momento clave para la Sanidad Ambiental, en el que la influencia de la exposición ambiental en el estado de salud de las personas es innegable y la concienciación ciudadana sobre ello crece cada día. La exposición simultánea a múltiples sustancias, los efectos a bajas dosis, la susceptibilidad individual, la incorporación de nuevos métodos alternativos a la experimentación animal, el uso de biomarcadores de efecto y exposición, la modelización avanzada o la integración del enfoque “One Health” son hoy elementos imprescindibles en Sanidad Ambiental a nivel global y en la evaluación del riesgo químico de forma particular. Este libro aborda estos retos desde una perspectiva científica rigurosa, pero también práctica, alineada con las necesidades reales de los profesionales que trabajan en la protección de la salud de la población.

Uno de los principales valores de esta publicación, en línea con la ciencia de la evaluación de riesgos, es su enfoque multidisciplinar, que integra conocimientos procedentes de la toxicología, la epidemiología, la química analítica, la evaluación de la exposición, la biomonitorización humana, la estadística, la modelización y la gestión del riesgo. Esta visión transversal refleja la realidad del trabajo en Sanidad Ambiental, donde la toma de decisiones exige una comprensión global de los procesos que vinculan las fuentes de contaminación, las vías de exposición, la toxicocinética de los químicos, los eventos tóxicos que se producen, la respuesta de cada organismo/ecosistema y en último término, los efectos sobre la salud humana y el medio ambiente.

Asimismo, el libro no se limita a describir metodologías consolidadas, sino que explora nuevas aproximaciones científicas y conceptuales que están transformando la evaluación de riesgos. La incorporación de métodos predictivos, enfoques basados en mecanismos de acción, nuevas estrategias de evaluación integrada y el uso de datos procedentes de la vigilancia ambiental y de la biomonitorización humana, representan avances fundamentales para mejorar la protección de la salud y optimizar la gestión de los riesgos químicos.

Desde la perspectiva del Centro Nacional de Sanidad Ambiental, esta obra constituye una herramienta de gran utilidad tanto para profesionales de la Sanidad Ambiental como para

investigadores, técnicos de las administraciones públicas, responsables de la evaluación y gestión del riesgo, y estudiantes de disciplinas relacionadas con la salud pública y el medio ambiente. Su contenido contribuye a fortalecer las capacidades técnicas necesarias para afrontar los desafíos emergentes y para avanzar hacia modelos de evaluación del riesgo más preventivos, transparentes y basados en la ciencia.

Finalmente, este libro refleja un compromiso compartido con la protección de la salud de la población y del medio ambiente, poniendo de manifiesto la importancia de la evaluación de riesgos como instrumento clave para la toma de decisiones informadas y la formulación de políticas públicas eficaces. Desde el Centro Nacional de Sanidad Ambiental, celebramos la publicación de esta obra y confiamos en que se convierta en referencia para quienes trabajan, investigan y se forman en el ámbito de la Sanidad Ambiental, contribuyendo a mejorar la comprensión de los riesgos químicos y a reforzar las estrategias de prevención y protección de la salud.

Dra. Ana Isabel Cañas Portilla

Directora del Centro Nacional de Sanidad Ambiental

Contenido

Listado Abreviaturas.....	10
1. Introducción a las metodologías de evaluación de riesgos y su aplicación en sanidad ambiental.....	15
1.1. El análisis de riesgo: un enfoque integral.....	15
1.2. Principio de precaución	17
1.3. La evaluación del riesgo: concepto y alcance	17
1.4. Modelos probabilísticos frente a modelos deterministas	18
1.5. Evaluaciones Prospectivas y Retrospectivas.....	19
1.6. Niveles de Evaluación de Riesgo	19
1.6.1. Nivel 1: Evaluaciones basadas en niveles de referencia	19
1.6.2. Nivel 2: Evaluaciones cuantitativas del riesgo	20
1.6.3. Nivel 3: Evaluaciones con carácter diagnóstico	20
1.6.4. Nivel 4: Evaluaciones de Riesgo de Nueva Generación (NGRA)	20
2. Metodologías de nivel 1 y su utilización en el marco normativo	21
2.1. Evaluación de Riesgos en el Marco Legislativo Europeo	21
2.2. Definición y características de las metodologías de nivel 1	24
2.3. Etapas en las metodologías de Nivel 1	24
2.3.1. Formulación del problema	24
2.3.2. Identificación del peligro.....	25
2.3.3. Caracterización del peligro.....	28
2.3.4. Evaluación de la Exposición	30
2.3.5. Caracterización del Riesgo	32
2.3.6. Sustancias con efectos genotóxicos-cancerígenos	34
2.4. Análisis de la incertidumbre	34
2.5. Fortalezas y limitaciones del enfoque tradicional.....	35
3. Metodologías probabilísticas de nivel 2	37
3.1. Diferencias entre metodologías deterministas y probabilísticas	37
3.1.1. Introducción a los enfoques probabilísticos	37
3.2. Métodos de evaluación de exposición probabilísticos (nivel 2)	38
3.2.1. Distribución de exposiciones.....	38
3.2.2. Beneficios y aplicaciones de los enfoques probabilísticos.....	39
3.2.3. Métodos de evaluación probabilística de efectos	40
3.2.4. Integración con la simulación Monte Carlo.....	40

3.2.5. Aplicaciones prácticas.....	40
3.2.6. Ventajas y limitaciones.....	41
3.3. Caracterización del riesgo con incertidumbre.....	41
3.3.1. Modelos probabilísticos vs. deterministas	41
3.3.2. Uso de distribuciones de probabilidad en toxicidad y exposición	42
3.4. Herramientas y software para evaluaciones de nivel 2.....	42
3.4.1. Introducción a herramientas como @RISK o Crystal Ball	42
@RISK (Palisade Corporation)	43
Crystal Ball (Oracle).....	43
Otras herramientas especializadas.....	44
3.5. Implementación de simulaciones en estudios ambientales	45
3.5.1. Aplicaciones y ejemplos de metodologías avanzadas	45
4. Metodologías retrospectivas de nivel 3.....	49
4.1. Definición y enfoques de evaluación retrospectiva	49
4.1.1. Diferencias con evaluaciones prospectivas	49
4.1.2. Aplicaciones en salud pública.....	50
4.2. Estudios epidemiológicos.....	51
4.2.1. Tipos de estudios: cohorte, caso-control y transversales	51
4.3. Estudios de biomonitorio.....	52
4.4. Uso de big data y modelado	54
4.4.1. Aplicación de inteligencia artificial y aprendizaje automático en análisis de riesgo.....	54
4.4.2. Bases de datos globales y su integración	55
5. Metodologías de nueva generación	57
5.1. ¿Qué son las metodologías de nueva generación?	57
5.1.1. Introducción a la Evaluación de Riesgos de Nueva Generación (NGRA por sus siglas en inglés: Next Generation Risk Assessment)	57
5.1.2. Definición de las Nuevas Aproximaciones Metodológicas (NAMs por sus siglas en inglés: New Approach Methodologies).....	59
5.1.3. Rol de las NAMs en la NGRA.....	61
5.2. Tipos de Nuevas Aproximaciones Metodológicas	62
5.2.1. NAMs <i>in vitro</i>	63
5.2.2. NAMs <i>in silico</i>	65
5.2.3. NAMs <i>in chemico</i>	67
5.2.4. Ómicas	68
5.2.5. Herramientas integradoras: AOPs, IATA, WoE, Read-across.....	69

5.3. Nuevas Aproximaciones Metodológicas y marco regulatorio	74
5.3.1. El papel de las NAMs en el marco regulatorio.....	74
5.3.2. Cosméticos	75
5.3.3. Industria química	76
5.3.4. Industria farmacéutica.....	77
5.3.5. Productos fitosanitarios y biocidas.....	78
5.4. Aplicación de las Nuevas Aproximaciones Metodológicas	79
5.4.1. Proyectos internacionales que emplean las NAMs	79
5.4.2. Ejemplos reales	81
6. Integración de evaluaciones para la salud y la perspectiva “Una Salud” (One Health).....	83
6.1. ¿Qué significa “Una Salud” (One Health)?	83
6.1.1. Introducción al concepto de “Una Salud” (One Health).....	83
6.1.2. Hacia una evaluación integrada: más allá de la exposición compartida.....	84
6.2. La salud de los ecosistemas como nexo integrador.....	85
6.2.1. Los servicios de los ecosistemas como marco para la evaluación del riesgo químico.....	85
6.2.2. Salud ecosistémica, zoonosis y vulnerabilidad	85
6.3. Marco metodológico para la evaluación de riesgos integrada	86
6.3.1. Adaptación de la evaluación de riesgo clásica al enfoque "Una Salud" (One Health).....	86
6.3.2. Integración con el desarrollo sostenible: indicadores de salud.....	86
6.4. Ejemplo de aplicación del enfoque “Una Salud” (One Health) en evaluaciones de riesgo integradas	87
6.4.1. El diclofenaco y el colapso de los buitres en la India.....	87
6.4.2. El cambio climático como modificador global de riesgos	87
7. Líneas de investigación futura: la evaluación de riesgos como base científica para la cuantificación de impactos en Salud Pública y Salud Ambiental	89
7.1. La metodología de evaluación de riesgos químicos como herramienta de investigación sanitaria	89
7.2. Evaluaciones retrospectivas basadas en el paradigma convencional.	91
7.3. Adaptación de valores guía normativos basados en el paradigma convencional.	92
7.4. De la evaluación de riesgos a la evaluación de impactos sobre la salud.	95
7.5. Análisis de consecuencias sobre la salud humana.	97
7.6. Análisis de consecuencias sobre la salud y sanidad animal.	100
7.7. Análisis de efectos sobre los ecosistemas.....	101
Conclusiones.....	103
8. Referencias bibliográficas	105

Listado Abreviaturas

ADI – Acceptable Daily Intake / Ingesta Diaria Admisible

ADRA – Amino acid Derivative Reactivity Assay / Ensayo de Reactividad de Derivados de Aminoácidos

AI/IA – Artificial Intelligence / Inteligencia Artificial

AOEL – Acceptable Operator Exposure Level / Nivel de Exposición Aceptable para el Operador

AOP – Adverse Outcome Pathway / Ruta de Resultado Adverso

APCRA – Accelerating the Pace of Chemical Risk Assessment

ARfD – Acute Reference Dose / Dosis de Referencia Aguda

BEA – Biomonitoring Study in Adolescents / Estudio de Biomonitorización en Adolescentes

BMD – Benchmark Dose / Dosis de Referencia Toxicológica

BMDL – Benchmark Dose Lower Confidence Limit / Límite Inferior de Confianza de la Dosis de Referencia Toxicológica

CLP – Classification, Labelling and Packaging Regulation / Reglamento de Clasificación, Etiquetado y Envasado

COP – Persistent Organic Pollutant / Contaminante Orgánico Persistente; también: Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants / Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes

CSF – Oral Cancer Slope Factor / Factor de Pendiente de Cáncer Oral

DMEL – Derived Minimal Effect Level / Nivel de Efecto Mínimo Derivado

DNEL – Derived No-Effect Level / Nivel Sin Efecto Derivado

DPRA – Direct Peptide Reactivity Assay / Ensayo de Reactividad Directa con Péptidos

ECHA – European Chemicals Agency / Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas

EDD – Estimated Daily Dose / Dosis Diaria Estimada de Exposición

EFSA – European Food Safety Authority / Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria

EMA – European Medicines Agency / Agencia Europea de Medicamentos

EPA – Environmental Protection Agency / Agencia de Protección Ambiental (EE. UU.)

EQS – Ecological Quality Standards / Estándares de Calidad Ecológica

ERA – Environmental Risk Assessment / Evaluación de Riesgos Ambientales

ESCA – Emerging Science in Chemicals Assessment / Grupo Asesor sobre Ciencia Emergente en la Evaluación de Sustancias Químicas

EURL-ECVAM – European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing / Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para Alternativas a la Experimentación con Animales

EUSES – European Union System for the Evaluation of Substances / Sistema de la Unión Europea para la Evaluación de Sustancias

FAIM – Food Additives Intake Model / Modelo de Ingesta de Aditivos Alimentarios

FDA – Food and Drug Administration / Administración de Alimentos y Medicamentos (EE. UU.)

FSANZ – Food Standards Australia New Zealand / Estándares Alimentarios de Australia y Nueva Zelanda

GHS/SGA – Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals / Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos

HBM4EU – Human Biomonitoring for Europe / Programa Europeo de Biomonitorización Humana

HBM-GV – Human Biomonitoring Guidance Values / Valores de Referencia de Biomonitorización Humana

HQ – Hazard Quotient / Cociente de Peligro

HTS – High-Throughput Screening / Ensayos de Cribado de Alto Rendimiento

HTI – High-Throughput Imaging / Ensayos de Imagen de Alto Rendimiento

IATA – Integrated Approaches to Testing and Assessment / Enfoques Integrados para Ensayos y Evaluación

ICED – Individual Critical Effect Dose / Dosis Crítica Individual

IFRA – International Fragrance Association / Asociación Internacional de Fragancias

IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change / Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático

iPSC – Induced Pluripotent Stem Cells / Células Madre Pluripotentes Inducidas

IUR – Inhalation Unit Risk / Riesgo Unitario por Inhalación

JRC – Joint Research Centre / Centro Común de Investigación de la Comisión Europea

KE – Key Event / Evento Clave

kDPRA – Kinetic Direct Peptide Reactivity Assay / Ensayo Cinético de Reactividad Directa con Péptidos

LC-MS – Liquid Chromatography–Mass Spectrometry / Espectrometría de Masas Acoplada a Cromatografía Líquida

LOAEL – Lowest Observed Adverse Effect Level / Nivel Mínimo con Efecto Adverso Observado

LOEC – Lowest Observed Effect Concentration / Concentración Mínima con Efectos Observados

MIE – Molecular Initiating Event / Evento Molecular Iniciador

MoA – Mode of Action / Modo de Acción

MoE – Margin of Exposure / Margen de Exposición

MPS – Microphysiological Systems / Sistemas Microfisiológicos

MRL – Maximum Residue Level / Nivel Máximo de Residuos

NAM – New Approach Methodology / Nueva Aproximación Metodológica

NGRA – Next Generation Risk Assessment / Evaluación del Riesgo de Nueva Generación

NHANES – National Health and Nutrition Examination Survey / Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (EE. UU.)

NOAEL – No Observed Adverse Effect Level / Nivel Sin Efecto Adverso Observado

NOEC – No Observed Effect Concentration / Concentración Sin Efectos Observados

OCDE/OECD – Organisation for Economic Co-operation and Development / Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos

OIM – Observed Individual Means / Medias Individuales Observadas

OMS/WHO – World Health Organization / Organización Mundial de la Salud

OPEX – Operator Exposure Model / Modelo de Exposición del Operador

OR – Odds Ratio / Razón de Posibilidades

OSHA – Occupational Safety and Health Administration / Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (EE. UU.)

PBPK – Physiologically Based Pharmacokinetic / Farmacocinética Basada en la Fisiología

PCB – Polychlorinated Biphenyls / Bifenilos Policlorados

PCE – Perchloroethylene / Percloroetileno

PENEC – Predicted Environmental No-Effect Concentration / Concentración Ambiental Prevista Sin Efectos

PFAS – Per- and Polyfluoroalkyl Substances / Sustancias Perfluoroalquiladas y Polifluoroalquiladas

PMDA – Pharmaceuticals and Medical Devices Agency / Agencia de Productos Farmacéuticos y Dispositivos Médicos (Japón)

PNEC – Predicted No-Effect Concentration / Concentración Estimada Sin Efectos

PoD – Point of Departure / Punto de Partida Toxicológico

PoCE – Probability of Critical Exposure / Probabilidad de Exposición Crítica

PRIMo – Pesticide Residue Intake Model / Modelo de Ingesta de Residuos de Plaguicidas

QSAR – Quantitative Structure-Activity Relationships / Relaciones Cuantitativas Estructura-Actividad

RAC – Risk Acceptance Criterion / Valor Crítico de Aceptación del Riesgo

RAx – Read-Across / Extrapolación por analogía

REACH – Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals / Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Sustancias Químicas

RfD – Reference Dose / Dosis de Referencia

RR – Relative Risk / Riesgo Relativo

SAAOP – Society for the Advancement of AOPs / Sociedad para el Avance de las Rutas de Resultado Adverso

SCCS – Scientific Committee on Consumer Safety / Comité Científico de Seguridad de los Consumidores

SSD – Species Sensitivity Distribution / Distribución de Sensibilidad de Especies

STOT – Specific Target Organ Toxicity / Toxicidad Específica en Órganos Diana

SVM – Support Vector Machine / Máquina de Vectores de Soporte

TDI – Tolerable Daily Intake / Ingesta Diaria Tolerable

TER – Toxicity–Exposure Ratio / Razón Toxicidad-Exposición

TRA – Targeted Risk Assessment / Evaluación de Riesgo Dirigida

UE/EU – European Union / Unión Europea

WoE – Weight of Evidence / Peso de la Evidencia.

1. Introducción a las metodologías de evaluación de riesgos y su aplicación en sanidad ambiental

En las últimas décadas, la producción y el uso de sustancias químicas han crecido a un ritmo sin precedentes, entre 1970 y 2010, la producción global se multiplicó por diez, impulsada por la industrialización, la globalización y el desarrollo económico (UNEP, 2019). Vivimos en una época que algunos han denominado como la “Era Química” (Bernhardt et al., 2017). En la actualidad, los compuestos sintéticos forman parte inseparable de la vida cotidiana y están presentes prácticamente en todos los ámbitos de actividad humana, desde bienes de consumo directo como alimentos, medicamentos y cosméticos, hasta productos de limpieza y materiales de uso estructural y funcional (plásticos, aislantes, recubrimientos en la construcción, envases...).

Este desarrollo ha traído beneficios incuestionables: avances en salud, agricultura, materiales y energía. Sin embargo, este progreso conlleva un precio, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que más de una cuarta parte de la carga mundial de enfermedad está relacionada con factores ambientales, incluidos miles de compuestos químicos, algunos persistentes, bioacumulativos y con toxicidad a largo plazo (WHO, 2019). **Este problema se agrava fundamentalmente por dos factores:**

1. Desigualdad global: la mayor carga de exposición recae en países con menos capacidad para controlar, regular y vigilar el uso de sustancias químicas (Landrigan et al., 2018).
2. Incertidumbre científica: la mayoría de las sustancias en uso no han sido evaluadas exhaustivamente, especialmente en cuanto a efectos crónicos, combinados o sobre poblaciones vulnerables (OECD, 2019a).

La historia reciente ofrece ejemplos elocuentes de cómo la falta de una evaluación adecuada puede derivar en crisis sanitarias y ambientales prolongadas. Casos como el uso masivo del plomo en gasolina o la dispersión de plaguicidas persistentes ilustran los costes de actuar tarde (EEA, 2013). Frente a este panorama, **la evaluación del riesgo** se convierte en una herramienta esencial para anticipar, prevenir y gestionar adecuadamente los efectos adversos antes de que alcancen dimensiones irreversibles.

1.1. El análisis de riesgo: un enfoque integral

El **análisis de riesgo** surge como un marco conceptual y metodológico unificado para predecir, comunicar y gestionar los posibles daños derivados de la exposición a agentes peligrosos. Se trata de un proceso estructurado, basado en la evidencia científica y en el diálogo interdisciplinar, que se compone de tres elementos interdependientes (OECD, 2021a):

1. La **Evaluación del riesgo** constituye el componente científico del proceso y tiene como objetivo estimar la probabilidad y gravedad de los efectos adversos asociados a la exposición a sustancias químicas (NRC, 2009). Es la columna vertebral del análisis, y el objeto de la presente guía, se estructura en torno a tres cuestiones fundamentales, que constituyen el paradigma tradicional de la evaluación de riesgo:

- I. la identificación de los efectos adversos potenciales asociados a la sustancia (**identificación del peligro**);
- II. la estimación de la magnitud, duración y frecuencia de la exposición de los individuos, poblaciones o compartimentos ambientales de interés (**evaluación de la exposición**); y,
- III. la integración de la información sobre peligros y exposición para estimar la probabilidad y gravedad de los posibles efectos adversos bajo condiciones específicas (**caracterización del riesgo**).

2. La **Gestión del riesgo** es un proceso de toma de decisiones orientado a seleccionar e implementar medidas destinadas a prevenir, reducir o eliminar los riesgos identificados. Este componente transforma el conocimiento científico generado en la evaluación de riesgo en decisiones y medidas concretas. Supone considerar no solo los datos de la evaluación, sino también factores económicos, sociales, políticos y éticos (OECD, 2021a). Entre las medidas de gestión del riesgo pueden incluirse, entre otras, la prohibición o restricción del uso de la sustancia, establecimiento de límites máximos de concentración en alimentos, aire o agua, la sustitución por alternativas más seguras, así como la implementación de medidas de control técnico o de protección personal en entornos laborales.
3. La **Comunicación del riesgo** consiste en el intercambio interactivo de información y opiniones sobre los riesgos entre evaluadores, gestores, partes interesadas y público general (Lofstedt et al., 2011). Lejos de ser un proceso unidireccional implica un dialogo continuo entre la comunidad científica, los evaluadores, las autoridades, los sectores afectados, los medios de comunicación y la ciudadanía (Smith et al., 2021). Su objetivo no es solo transmitir datos técnicos, sino fomentar la comprensión, generar confianza y promover una toma de decisiones informada. Una comunicación eficaz debe incluir información sobre los niveles de riesgo identificados y sobre las medidas de gestión adoptadas para minimizarlos, y requiere de:
 - I. Transparencia sobre el grado de certeza e incertidumbre.
 - II. Claridad en el lenguaje, evitando tecnicismos innecesarios.
 - III. Reconocimiento de las preocupaciones y percepciones del público.
 - IV. Adaptación del mensaje a diferentes audiencias.

Estos tres componentes del análisis del riesgo no constituyen etapas lineales aisladas e independientes, sino que se retroalimentan. Una evaluación de riesgo más precisa orienta una gestión más eficaz; una gestión transparente refuerza la credibilidad del proceso y facilita la comunicación; y una comunicación clara y coherente contribuye a mejorar la aceptación social y el cumplimiento de las medidas adoptadas.



Figura 1. Marco conceptual del Análisis de Riesgo.

1.2. Principio de precaución

El **principio de precaución** constituye un elemento transversal que debe integrarse en los procesos de evaluación, gestión y comunicación del riesgo, especialmente en situaciones en las que la evidencia científica disponible es limitada, incierta o insuficiente para caracterizar de manera concluyente los posibles efectos adversos (UNESCO, 2005). Si bien la evaluación del riesgo se apoya tradicionalmente en datos toxicológicos robustos, obtenidos a través de estudios estandarizados – históricamente basados en ensayos en animales de laboratorio- su aplicación práctica depende en gran medida de la disponibilidad, calidad y representatividad de la información existente. Sin embargo, muchas sustancias químicas presentes en el entorno, tanto nuevas como existentes, carecen de una base de datos toxicológica suficiente para permitir una caracterización completa del riesgo. En este contexto, el principio de precaución adquiere especial relevancia al permitir la adopción de medidas preventivas incluso cuando no se ha establecido de forma concluyente una relación causa-efecto entre la exposición y un efecto adverso (European Commission, 2006).

Este principio reconoce que la incertidumbre no debe ser un impedimento para proteger la salud humana y el medio ambiente, y plantea que la inacción ante posibles daños puede ser más costosa que una intervención anticipada. Aplicado a la gestión del riesgo químico, permite justificar acciones regulatorias o restricciones provisionales mientras se generan datos adicionales. En Europa, este enfoque ha sido incorporado de forma explícita y sistemática en sus marcos regulatorios (como el Reglamento REACH), promoviendo una visión más precautoria y preventiva de la evaluación del riesgo. Su integración no sustituye la evaluación científica, sino que la complementa, fortaleciendo la capacidad de respuesta frente a amenazas emergentes.

1.3. La evaluación del riesgo: concepto y alcance

La evaluación del riesgo (ER) es un proceso científico sistemático que proporciona la base para la toma de decisiones de gestión orientadas a proteger la salud humana, la salud animal y el medio ambiente (NRC, 2009). Aunque esté sujeta a incertidumbres inherentes- derivadas de limitaciones en los datos disponibles y de la variabilidad biológica y ambiental-, la evaluación del riesgo asociada a la exposición a sustancias químicas constituye una herramienta esencial para identificar, caracterizar y priorizar los peligros potenciales, optimizando así la asignación de recursos disponibles (WHO, 2021) .

En la práctica, la evaluación del riesgo permite, por ejemplo, estimar los riesgos asociados al consumo de agua y determinar la necesidad de buscar fuentes más seguras, evaluar la peligrosidad de vertidos químicos y definir las medidas de respuesta de emergencia más adecuadas, así como valorar la viabilidad de desarrollar zonas residenciales en emplazamientos previamente contaminados o la conveniencia de llevar a cabo su descontaminación. Asimismo, las evaluaciones de riesgo “prospectivas” permiten anticipar los posibles riesgos antes de la comercialización de la sustancia, lo que sustenta decisiones regulatorias clave, como la autorización de sustancias para usos específicos, el establecimiento de límites de exposición en entornos ocupacionales, productos, compartimentos ambientales o alimentos, y la definición de restricciones a las emisiones químicas procedentes de actividades industriales, agrícolas u otras de origen antrópico (ECHA, 2012).

En el contexto de la evaluación del riesgo es fundamental distinguir entre dos conceptos estrechamente relacionados, pero conceptualmente diferentes, que con frecuencia se utilizan de manera indistinta: **peligro** y **riesgo** (WHO, 2010).

- El **peligro** se define como la capacidad inherente de una sustancia, agente o situación para causar un efecto adverso en un organismo, sistema o población.

- El **riesgo**, en cambio, hace referencia a la probabilidad de que dicho efecto adverso se produzca bajo condiciones específicas de exposición, y depende tanto de la peligrosidad intrínseca del agente como de la magnitud, frecuencia y duración de la exposición.

Esta relación puede expresarse de forma simplificada mediante la siguiente expresión:

$$\text{RIESGO} = \text{PELIGRO} \times \text{EXPOSICIÓN} (\times \text{SUSCEPTIBILIDAD INDIVIDUAL})$$

Siendo la susceptibilidad individual el factor que explica por qué, ante una misma dosis de exposición a un peligro químico, no todos los individuos responden de la misma manera (Grandjean and Landrigan, 2014). Esta variabilidad viene determinada por factores genéticos, como las diferencias en las enzimas implicadas en la metabolización de las sustancias; por el estado fisiológico, que incluye la edad, el sexo, el estado nutricional, la exposición a otras sustancias, o la presencia de enfermedades preexistentes. Hábitos de vida, como el tabaquismo, el consumo de alcohol o drogas, o el estrés, también pueden modificar o potenciar los efectos tóxicos de una sustancia química.

En este planteamiento, el peligro es una propiedad fija de la sustancia, mientras que la exposición y la susceptibilidad son variables dependientes del contexto y del receptor. Por tanto, una sustancia puede presentar una elevada peligrosidad intrínseca; sin embargo, si no existe exposición, el riesgo asociado será nulo o despreciable.

1.4. Modelos probabilísticos frente a modelos deterministas

Una vez establecida la caracterización del riesgo como el proceso en el que se integran la información sobre peligro y exposición para apoyar la toma de decisiones, el siguiente aspecto clave es cómo se lleva a cabo dicha integración desde el punto de vista metodológico. En este contexto, pueden distinguirse principalmente dos enfoques: los **modelos deterministas** y los **modelos probabilísticos**.

1. Los **modelos deterministas** se basan en la comparación de valores puntuales de exposición —como medias o percentiles seleccionados— con valores de referencia toxicológica, tales como la dosis de referencia (RfD) o la ingesta diaria tolerable (TDI) (KEMI, 2020). Este enfoque, ampliamente utilizado en evaluaciones regulatorias y de cribado, ofrece una aproximación sencilla y transparente; sin embargo, al condensar la variabilidad y la incertidumbre en valores únicos, puede dar lugar tanto a subestimaciones como a sobreestimaciones del riesgo.
2. Por el contrario, los **modelos probabilísticos** representan la exposición y, cuando es posible, la toxicidad mediante **distribuciones de probabilidad**, permitiendo una descripción más explícita de la variabilidad y la incertidumbre inherentes al sistema evaluado (Bruce et al., 2007; Heo et al., 2021). Este tipo de modelos no se limita a proporcionar un único indicador de riesgo, sino que ofrece una visión más completa de su comportamiento, lo que resulta especialmente útil en contextos en los que se dispone de información suficiente y se requiere una caracterización más refinada del riesgo.

En la práctica, la elección entre enfoques deterministas y probabilísticos suele responder a un **enfoque escalonado o por niveles** (*tiered approach*), en el que el grado de complejidad del análisis se ajusta progresivamente en función del objetivo de la evaluación, la disponibilidad de información y el nivel de incertidumbre aceptable. De este modo, las evaluaciones iniciales suelen basarse en métodos más simples y conservadores, mientras que análisis posteriores pueden incorporar enfoques probabilísticos más avanzados cuando se requiere una caracterización más detallada del riesgo. Este planteamiento permite adaptar la evaluación a las necesidades específicas del contexto regulatorio o científico, tal como se describe en el apartado siguiente.

1.5. Evaluaciones Prospectivas y Retrospectivas

En el ámbito de la evaluación de riesgos para la salud, es común distinguir entre evaluaciones retrospectivas y prospectivas, según el momento y el propósito del análisis. Ambos enfoques responden a finalidades distintas, pero complementarias.

Las **evaluaciones retrospectivas** se llevan a cabo una vez que ya se ha observado un efecto adverso, y tienen como objetivo analizar la información disponible sobre la incidencia de enfermedades u otros impactos en la salud o en los ecosistemas relacionados con la exposición a sustancias químicas. Este tipo de evaluaciones se fundamenta en evidencia empírica previamente registrada, como datos de monitorización ambiental, información clínica o registros epidemiológicos, y permite identificar asociaciones entre la exposición y los efectos observados, contribuyendo a esclarecer las causas del daño y a orientar medidas correctivas o preventivas (Miller and Machado, 2010).

Por el contrario, las **evaluaciones prospectivas** se centran en anticipar los posibles impactos sobre la salud y el medio ambiente antes de que se adopten decisiones de gestión o se introduzcan nuevas sustancias, productos o tecnologías. Estas evaluaciones se basan en escenarios hipotéticos de exposición, apoyados en datos toxicológicos y epidemiológicos disponibles y en herramientas de modelización, con el objetivo de estimar riesgos potenciales y respaldar una toma de decisiones informada. Este enfoque resulta especialmente relevante en contextos regulatorios, ya que permite prevenir posibles efectos adversos antes de que se autorice el uso de la sustancia y reducir la probabilidad de daños futuros.

Con independencia de su carácter prospectivo o retrospectivo, la evaluación del riesgo puede abordarse con distintos grados de detalle y profundidad analítica (niveles de evaluación), en función del objetivo del análisis, la disponibilidad de información y el contexto de aplicación. Este planteamiento escalonado permite adaptar el esfuerzo evaluador a las necesidades específicas de cada caso, optimizando el uso de los recursos disponibles, priorizando las acciones adicionales necesarias para generar nueva información.

1.6. Niveles de Evaluación de Riesgo

1.6.1. Nivel 1: Evaluaciones basadas en niveles de referencia

Las evaluaciones de nivel 1 constituyen el enfoque más ampliamente utilizado en **contextos regulatorios**. Su objetivo fundamental es determinar si una exposición específica se encuentra por debajo de un umbral considerado aceptable para la salud humana (o el medio ambiente), a partir de valores de referencia establecidos previamente por organismos científicos o normativos. Estos valores (como el valor límite umbral, la dosis diaria admisible o la concentración de referencia) representan estimaciones conservadoras diseñadas para proteger a la población general, incluyendo a los grupos más vulnerables.

Este tipo de evaluación convierte la incertidumbre inherente al análisis del riesgo en decisiones determinísticas, recurriendo frecuentemente a valores por defecto y supuestos de "peor caso" para garantizar la protección frente a posibles exposiciones adversas. Así, aunque no proporciona una medida directa de la probabilidad o magnitud del daño, permite establecer de forma clara si el riesgo puede considerarse aceptable o si es necesario implementar medidas de control o intervención.

1.6.2. Nivel 2: Evaluaciones cuantitativas del riesgo

Cuando se supera un nivel de referencia, o cuando se requiere una caracterización más precisa del riesgo, se recurre a evaluaciones de nivel 2, que permiten **cuantificar tanto la magnitud como la probabilidad** de que se produzcan efectos adversos en condiciones específicas de exposición. Estas evaluaciones se fundamentan en modelos matemáticos o probabilísticos y requieren una caracterización detallada de la relación dosis-respuesta, así como de las distribuciones de exposición en la población.

Este enfoque tiene un amplio uso en el ámbito científico y puede ser también empleado en contextos normativos, especialmente en situaciones de emergencia, accidentes, exposiciones agudas o escenarios complejos. Una de sus ventajas clave es la posibilidad de discriminar entre la variabilidad biológica real (p. ej., diferencias interindividuales en la respuesta) y la incertidumbre asociada a limitaciones del conocimiento o la calidad de los datos disponibles. Esta diferenciación es fundamental para priorizar acciones y comunicar de forma más transparente el riesgo a los responsables de la toma de decisiones.

1.6.3. Nivel 3: Evaluaciones con carácter diagnóstico

El tercer nivel de evaluación se aplica en situaciones retrospectivas, cuando ya se han observado efectos adversos y se requiere investigar su origen. Estas evaluaciones tienen un enfoque claramente diagnóstico y se orientan a identificar el agente causal, la fuente de exposición o, en contextos más complejos, a desentrañar las contribuciones relativas de distintos factores en una etiología multifactorial.

Este tipo de análisis implica comparar los efectos observados con los efectos esperados en función de los niveles de exposición estimados, integrando datos toxicológicos, epidemiológicos, ambientales y clínicos. Su utilidad es especialmente relevante en contextos como la salud pública ambiental, la vigilancia epidemiológica post-incidente, las investigaciones forenses o los litigios asociados a daños en la salud.

1.6.4. Nivel 4: Evaluaciones de Riesgo de Nueva Generación (NGRA)

Este nivel se orienta a una comprensión mecanística del riesgo, centrada en el análisis de cómo la sustancia interactúa con los sistemas biológicos a distintos niveles de organización. Incorpora de manera explícita las especificidades de la exposición, incluyendo escenarios realistas, ventanas críticas y poblaciones vulnerables. A partir de la integración de múltiples líneas de evidencia, se formulan hipótesis biológicamente plausibles que permiten vincular la exposición con los efectos adversos observados o esperados, proporcionando una base más refinada y predictiva para la toma de decisiones.

2. Metodologías de nivel 1 y su utilización en el marco normativo

2.1. Evaluación de Riesgos en el Marco Legislativo Europeo

En la Unión Europea (UE), la regulación de las sustancias químicas y de los productos que pueden tener un impacto sobre la salud o el medio ambiente se fundamenta en un conjunto de normas que buscan garantizar un nivel elevado de protección para las personas, los animales y los ecosistemas. Estas normas no solo establecen obligaciones para las empresas que fabrican, comercializan o utilizan dichas sustancias o productos, sino que también especifican cómo deben evaluarse sus posibles riesgos antes y durante su puesta en el mercado.

La evaluación de riesgos constituye el pilar de este sistema regulatorio. Este proceso consiste en recopilar y analizar información científica sobre los peligros intrínsecos de una sustancia (por ejemplo, su toxicidad, inflamabilidad o propiedades de persistencia y bioacumulación), las vías por las que las personas o el medio ambiente pueden estar expuestos, y las posibles consecuencias de dicha exposición. Con estos elementos, se determina si la sustancia o producto puede usarse de forma segura y sus condiciones de uso.

Para coordinar este proceso, la UE cuenta con varias agencias especializadas que asesoran a la Comisión Europea y a los Estados miembros:

- ECHA (Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas), con sede en Helsinki, gestiona la aplicación de los reglamentos REACH, CLP y Biocidas, y coordina la evaluación de sustancias químicas en toda la Unión.
- EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria), con sede en Parma, asesora científicamente en todo lo relacionado con la seguridad alimentaria, incluidos los plaguicidas, contaminantes alimentarios, aditivos y materiales en contacto con alimentos.
- EMA (Agencia Europea de Medicamentos), con sede en Ámsterdam, es responsable de la evaluación científica, la supervisión y el control de la seguridad de los medicamentos de uso humano y veterinario en la UE.

El funcionamiento de este sistema combina el trabajo de las agencias europeas con el de las autoridades competentes de los Estados miembros. En términos generales, se lleva a cabo una evaluación científica inicial basada en la información aportada por la industria y en la evidencia científica disponible. Dicha evaluación es posteriormente revisada y debatida por los Estados miembros en el seno de comités técnicos y, cuando procede, por la Comisión Europea, que adopta la decisión final. Este procedimiento garantiza que las decisiones no dependan de un único actor, sino que se basen en un proceso armonizado a nivel europeo, fundamentado en criterios científicos.

Dentro de este marco general, cada legislación sectorial concreta cómo debe hacerse la evaluación:

1. El Reglamento REACH (CE) 1907/2006, gestionado por la ECHA, establece que la evaluación de sustancias químicas implica recopilar y analizar información sobre sus propiedades, su clasificación de peligros y la exposición prevista, con el fin de determinar medidas de gestión adecuadas.
2. El Reglamento CLP (CE) 1272/2008, también bajo el ámbito de la ECHA, vincula la evaluación a la clasificación y etiquetado de las sustancias y las mezclas en función de sus peligros físicos, para la salud humana y para el medio ambiente, teniendo en cuenta el conjunto de las evidencias disponibles.
3. En el caso de los productos cosméticos (Reglamento (CE) 1223/2009), las autoridades competentes de los Estados miembros, con el apoyo del Comité Científico de Seguridad de los Consumidores (SCCS), realizan la evaluación de seguridad de ingredientes y productos antes de su comercialización.

4. El Reglamento (UE) 528/2012 relativo a los biocidas, supervisado por la ECHA y el Comité de Biocidas, así como el Reglamento (CE) 1107/2009 sobre productos fitosanitarios, con evaluación científica a cargo de la EFSA, requieren evaluaciones que integren información sobre peligros, exposición y riesgos para la salud humana, la salud animal y el medio ambiente, en función de los usos previstos.
5. En el sector alimentario, normas como el Reglamento (CE) 1935/2004 sobre materiales en contacto con alimentos o el Reglamento (UE) 2023/915 sobre contaminantes encomiendan a la EFSA la valoración científica de la inocuidad, sirviendo de base para el establecimiento de límites máximos y condiciones de uso. De forma complementaria, los aditivos alimentarios para consumo humano se rigen por el Reglamento (CE) 1333/2008, mientras que los aditivos destinados a la alimentación animal están regulados por el Reglamento (CE) 1831/2003. Estableciéndose en ambos casos procedimientos de autorización basados en evaluaciones científicas de la EFSA para garantizar la protección del consumidor, la salud animal y el medio ambiente.
6. En el ámbito farmacéutico, la Directiva 2001/83/CE y el Reglamento (CE) 726/2004, bajo la coordinación de la EMA, incluyen la evaluación de riesgos como parte del proceso de autorización, considerando seguridad, eficacia, calidad y la relación beneficio-riesgo.
7. Los Reglamentos (UE) 2017/745 sobre productos sanitarios y 2017/746 sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*, bajo la EMA y autoridades nacionales, incorporan la evaluación de riesgos como requisito esencial, valorando la seguridad clínica, la compatibilidad química y biológica, y la minimización de riesgos residuales.
8. En el ámbito laboral, las Directivas 98/24/CE, relativa a los agentes químicos, y 2004/37/CE, sobre carcinógenos y mutágenos, transpuestas por los Estados miembros, exigen la identificación de peligros y la estimación de riesgos con el fin de implementar medidas preventivas adecuadas.

En conjunto, este sistema legislativo europeo combina la evidencia científica con un proceso de revisión compartida entre agencias y Estados miembros, garantizando que la gestión de los riesgos de sustancias y productos se lleve a cabo de forma coherente, transparente y orientada a la protección de la salud humana y del medio ambiente.

Tabla 1. Legislaciones de la UE que contemplan la evaluación de riesgo de sustancias químicas.

Sector / Producto	Reglamento / Directiva	Agencia responsable	Evaluación de riesgos	Comentarios
Sustancias químicas	REACH (CE) 1907/2006	ECHA	Propiedades intrínsecas, exposición, medidas de gestión	Proceso europeo compartido entre Estados miembros
Clasificación y etiquetado	CLP (CE) 1272/2008	ECHA	Peligros físicos, para la salud y medio ambiente	Considera todas las evidencias disponibles
Cosméticos	Reglamento 1223/2009	Autoridades nacionales + SCCS	Seguridad de ingredientes y productos	Evaluación antes de la comercialización
Biocidas	Reglamento 528/2012	Autoridades nacionales + ECHA	Peligros, exposición y riesgos según uso	Revisión colegiada entre Estados miembros

Sector / Producto	Reglamento / Directiva	Agencia responsable	Evaluación de riesgos	Comentarios
Productos fitosanitarios	Reglamento 1107/2009	EFSA	Peligros, exposición y riesgos humanos, animales y ambientales	Basado en usos previstos
Materiales en contacto con alimentos	Reglamento 1935/2004	EFSA	Inocuidad y límites máximos	Evalúa condiciones de uso
Contaminantes alimentarios	Reglamento 2023/915	EFSA	Riesgo para salud humana	Fija límites y condiciones de seguridad
Aditivos alimentarios (uso humano)	Reglamento (CE) 1333/2008	EFSA	Seguridad toxicológica, exposición dietética y límites de uso	Autorización previa basada en evaluación científica
Aditivos para alimentación animal	Reglamento (CE) 1831/2003	EFSA	Seguridad para animales, consumidores, usuarios y medio ambiente	Evaluación por categorías de uso y especies animales
Medicamentos	Directiva 2001/83/CE; Reglamento (CE) 726/2004	EMA	Seguridad, eficacia, calidad y relación beneficio-riesgo	Parte integral del proceso de autorización
Productos sanitarios	Reglamentos (UE) 2017/745 y 2017/746	EMA + Autoridades nacionales	Seguridad clínica, compatibilidad química y biológica	Minimización de riesgos residuales
Ámbito laboral	Directivas 98/24/CE y 2004/37/CE	Autoridades nacionales	Identificación de peligros y estimación de riesgos	Implementación de medidas preventivas

En comparación con otros entornos regulatorios, el modelo de la UE se caracteriza por su estructura basada en agencias especializadas y por la aplicación del principio de precaución, que implica evaluar de forma exhaustiva los riesgos antes de autorizar la comercialización de un producto. En Estados Unidos, por ejemplo, la EPA (Environmental Protection Agency), la FDA (Food and Drug Administration) y la OSHA (Occupational Safety and Health Administration) asumen funciones análogas en distintos ámbitos, pero el sistema es más fragmentado y, en algunos casos, permite la comercialización previa a una evaluación completa, con controles posteriores. En países como Japón o Canadá, los marcos regulatorios también están alineados con estándares internacionales de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), aunque tienden a ser más flexibles y adaptativos. Así, mientras la UE pone el acento en la armonización entre Estados miembros y en la revisión conjunta de la evidencia científica, otros entornos priorizan una mayor rapidez de acceso al mercado, asumiendo un control más reactivo.

A nivel global, existen iniciativas e instrumentos normativos que complementan la regulación nacional y regional de las sustancias químicas y de los productos con impacto ambiental y sanitario. La OMS establece directrices sobre calidad del aire, agua potable y seguridad química, promoviendo estándares basados en la evidencia científica para la protección de la salud pública a escala internacional. Asimismo, el Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP) y el Convenio de Minamata sobre Mercurio regulan la producción, el uso y la liberación de sustancias químicas altamente peligrosas y persistentes en el medio ambiente, con el objetivo de minimizar su impacto sobre la salud humana y los ecosistemas. Como

instrumento complementario, el Convenio de Rotterdam se centra en el control del comercio internacional de determinados productos químicos peligrosos y plaguicidas mediante el procedimiento de consentimiento fundamentado previo. Este mecanismo obliga a los países exportadores a notificar y obtener el consentimiento explícito de los países importadores antes de realizar envíos de sustancias incluidas en el anexo del Convenio. Además, promueve el intercambio de información sobre peligros, riesgos y medidas regulatorias adoptadas a nivel nacional, fortaleciendo las capacidades de los Estados para tomar decisiones informadas en materia de gestión del riesgo químico.

La OCDE también desempeña un papel clave mediante la elaboración de guías de ensayo armonizadas y principios para la evaluación de riesgos químicos. Estas guías incluyen métodos *in vitro* e *in vivo*, así como estrategias orientadas a la reducción del uso de animales en los ensayos. Otras iniciativas relevantes incluyen el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), que impulsa políticas globales para una gestión segura de las sustancias químicas, y el Enfoque Estratégico para la Gestión Internacional de los Productos Químicos (SAICM, Strategic Approach to International Chemicals Management), cuyo objetivo es promover un manejo seguro de los productos químicos a lo largo de todo su ciclo de vida, con especial atención a los países en desarrollo.

En conjunto, estos marcos internacionales y regionales complementan los sistemas nacionales y ofrecen un contexto de cooperación, armonización y desarrollo de metodologías científicas avanzadas, reforzando la protección de la salud humana y del medio ambiente a escala global.

2.2. Definición y características de las metodologías de nivel 1

Como mencionábamos anteriormente, la evaluación de riesgo de sustancias químicas se ha convertido en una herramienta fundamental para proteger la salud humana y el medio ambiente frente a los posibles efectos adversos derivados de la exposición a compuestos que utilizamos en nuestro día a día. Desde pesticidas en la agricultura hasta aditivos en los alimentos, pasando por medicamentos, productos de limpieza, cosméticos o sustancias industriales, todos estos compuestos se someten a un proceso de análisis estructurado que permite responder a una pregunta esencial: ¿podemos usar esta sustancia de manera segura, y bajo qué condiciones?

El enfoque más habitual en la práctica regulatoria es el de **Nivel 1**, un tipo de evaluación que se caracteriza por ser **prospectiva, normativa y conservadora**. En otras palabras, está diseñada para garantizar la seguridad de las poblaciones y los ecosistemas en escenarios de uso razonablemente previsibles, siempre aplicando un margen de protección. Tal y como se ha expuesto, la evaluación de riesgo es un procedimiento técnico que se desglosa en una secuencia de etapas interrelacionadas. En el caso del Nivel 1, estas etapas se aplican de forma estandarizada y con un carácter conservador, con el fin de garantizar un nivel adecuado de protección de la salud humana y del medio ambiente.

2.3. Etapas en las metodologías de Nivel 1

2.3.1. Formulación del problema

En el caso de las evaluaciones de nivel 1, la formulación del problema comienza definiendo el contexto en el que se usará la sustancia química: su ciclo de vida, los escenarios de exposición relevantes y las poblaciones que podrían verse afectadas. No es lo mismo un producto fitosanitario aplicado a gran escala en un cultivo que un cosmético de uso tópico o un producto industrial que solo se manipula en un entorno laboral.

La formulación del problema ayuda a **delimitar el alcance de la evaluación** de acuerdo con las necesidades de los gestores y sus posibles decisiones: se establece qué efectos se deben vigilar, en qué condiciones de uso y qué grado de protección se va a exigir.

En el caso de las evaluaciones de nivel 1, gran parte de la formulación del problema viene definida por el contexto regulatorio en el que la sustancia evaluada está incluida o que la regula. Es la legislación aplicable la que establece, junto con las guías técnicas desarrolladas por las respectivas agencias, las condiciones de la evaluación, especificando, por ejemplo, los escenarios de exposición que deben contemplarse y sus valores por defecto, los efectos adversos que deben evaluarse y su extrapolación, e interpretan el grado de protección exigido para la población humana y/o el medio ambiente en términos de nivel de riesgo aceptable.

De este modo, la formulación del problema no solo refleja el uso real y previsto de la sustancia, sino que integra los requisitos legales y normativos que orientan y condicionan el proceso de evaluación de riesgo.

2.3.2. Identificación del peligro

La identificación del peligro tiene como objetivo principal responder a la pregunta: ¿qué efectos adversos puede causar una sustancia química? o, en otras palabras, ¿qué tipo de toxicidad presenta? Este proceso constituye la base para caracterizar los posibles efectos nocivos de una sustancia sobre la salud humana y el medio ambiente (IPCS, 2004).

Es importante destacar que la toxicidad de una sustancia depende de múltiples factores, como la dosis y la especie, la duración de la exposición, la vía de administración, la etapa de la vida, el sexo, la capacidad de absorción, el metabolismo, la distribución y excreción de la sustancia, así como el estado de salud y nutricional del individuo, la exposición concomitante a otras sustancias químicas y los ritmos circadianos (Krewski et al., 2010). Los efectos adversos pueden ser locales (como la irritación cutánea u ocular) o sistémicos, afectando a órganos específicos o sistemas completos. En función del patrón de exposición, estos efectos se clasifican principalmente en toxicidad aguda (efectos inmediatos tras dosis únicas) y toxicidad por exposición repetida, la cual se apoya en datos de estudios subcrónicos y crónicos para determinar daños a largo plazo. Entre los tipos de efectos críticos se incluyen la genotoxicidad, la carcinogenicidad, la toxicidad para la reproducción y la disrupción endocrina, que constituyen clases de peligro específicas en la normativa. Hay que precisar que otras respuestas tóxicas, como la neurotoxicidad y la inmunotoxicidad, se clasifican habitualmente bajo la clase de Toxicidad específica en determinados órganos (STOT), ya sea por exposición única o repetida, al no constituir por ahora clases de peligro independientes en el sistema armonizado.

En el ámbito ambiental, la identificación del peligro considera datos de toxicidad en organismos representativos de distintos niveles tróficos, como peces, aves, abejas, lombrices y microorganismos del suelo. Se consideran tanto efectos apicales —como la mortalidad, la reducción del crecimiento o los fallos reproductivos— como efectos subletales que, aunque no resulten inmediatamente letales, pueden comprometer la viabilidad de las poblaciones a largo plazo.

En la evaluación de riesgo de nivel 1, la identificación del peligro se apoya de forma explícita en sistemas normalizados de clasificación y etiquetado de sustancias químicas. A nivel internacional, este proceso se basa en el Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), desarrollado en el marco de Naciones Unidas con el objetivo de armonizar los criterios de clasificación de peligros a escala global. En la Unión Europea, este sistema se implementa legalmente a través del Reglamento CLP (CE) n.º 1272/2008, que hace obligatoria la clasificación, etiquetado y envasado basándose en las clases y categorías de peligro definidas, incorporando además disposiciones específicas para el mercado comunitario. En este

sentido, la identificación del peligro de nivel 1 se estructura en torno a las clases y categorías de peligro definidas por el GHS/CLP, lo que permite una evaluación inicial estandarizada y comparable de los riesgos potenciales para la salud humana y el medio ambiente.

Tabla 2. Criterios de Gravedad por Clases de Peligro: comparativa en los Sistemas GHS y CLP.

Clase de Peligro	SGA / GHS	Reglamento CLP
Toxicidad aguda (Oral)	Cat 1: ≤ 5 mg/kg; Cat 2: $5 < C \leq 50$; Cat 3: $50 < C \leq 300$; Cat 4: $300 < C \leq 2000$; Cat 5: $2000 < C \leq 5000$.	Cat 1: ≤ 5 mg/kg; Cat 2: $5 < C \leq 50$; Cat 3: $50 < C \leq 300$; Cat 4: $300 < C \leq 2000$.
Toxicidad aguda (Cutánea)	Cat 1: ≤ 50 mg/kg; Cat 2: $50 < C \leq 200$; Cat 3: $200 < C \leq 1000$; Cat 4: $1000 < C \leq 2000$; Cat 5: $2000 < C \leq 5000$.	Cat 1: ≤ 5 mg/kg; Cat 2: $5 < C \leq 50$; Cat 3: $50 < C \leq 300$; Cat 4: $300 < C \leq 2000$.
Toxicidad aguda (Inhalación-Vapores)	Cat 1: $\leq 0,5$ mg/l; Cat 2: $0,5 < C \leq 2$; Cat 3: $2 < C \leq 10$; Cat 4: $10 < C \leq 20$.	Cat 1: $\leq 0,5$ mg/l; Cat 2: $0,5 < C \leq 2$; Cat 3: $2 < C \leq 10$; Cat 4: $10 < C \leq 20$.
Corrosión / Irritación cutánea	Cat 1 (A/B/C): Necrosis; Cat 2: Irritación reversible; Cat 3: Irritación leve.	Cat 1 (A/B/C): Necrosis; Cat 2: Irritación reversible (valor medio $\geq 2,3 \leq 4,0$).
Lesiones oculares / Irritación	Cat 1: Irreversible (21 d); Cat 2 (2A/2B): Reversible (7 a 21 d).	Cat 1: Irreversible (21 d); Cat 2: Reversible.
Sensibilización (Resp./Cut.)	Cat 1 (1A/1B): Basado en frecuencia y potencia (ej. LLNA EC3 $\leq 2\%$).	Cat 1 (1A/1B): Basado en frecuencia y potencia (ej. LLNA EC3 $\leq 2\%$).
Mutagenicidad / Carcinogenicidad	Cat 1A: Humanos; Cat 1B: Animales; Cat 2: Sospecha.	Cat 1A: Humanos; Cat 1B: Animales; Cat 2: Sospecha.
Toxicidad para la Reproducción	Cat 1A/1B: Conocido/Supuesto; Cat 2: Sospecha; Lactancia: Efectos en leche.	Cat 1A/1B: Conocido/Supuesto; Cat 2: Sospecha; Lactancia: Efectos en leche.
STOT SE (Exposición Única)	Cat 1: Graves (≤ 300 mg/kg pc); Cat 2: Significativos; Cat 3: Transitorios.	Cat 1: Graves (≤ 300 mg/kg pc); Cat 2: Significativos; Cat 3: Transitorios.
STOT RE (Exp. Repetida)	Cat 1 (90 d): ≤ 10 mg/kg/d (oral); Cat 2: $10 < C \leq 100$.	Cat 1 (90 d): ≤ 10 mg/kg/d (oral); Cat 2: $10 < C \leq 100$.
Peligro por Aspiración	Cat 1: $\leq 20,5$ mm ² /s (40 °C); Cat 2: $20,5 < C \leq 100$.	Cat 1: $\leq 20,5$ mm ² /s (40 °C).
Alteración Endocrina (Salud)	(No establecida)	Cat 1: Se sabe/supone; Cat 2: Se sospecha.
Toxicidad Acuática (Aguda)	Cat 1: ≤ 1 mg/l; Cat 2: $1 < C \leq 10$; Cat 3: $10 < C \leq 100$.	Cat 1: ≤ 1 mg/l.
Toxicidad Acuática (Crónica)	Cat 1: $\leq 0,1$ mg/l (No RD) / $\leq 0,01$ (RD); Cat 2: ≤ 1 (No RD) / $\leq 0,1$ (RD); Cat 4: Red seguridad.	Cat 1: $\leq 0,1$ mg/l (No RD) / $\leq 0,01$ (RD); Cat 2: ≤ 1 (No RD) / $\leq 0,1$ (RD); Cat 4: Red seguridad.
Alteración Endocrina (Env.)	(No establecida)	Cat 1: Se sabe/supone; Cat 2: Se sospecha.
Propiedades PBT / mPmB	(Información en anexos SGA)	PBT: P (agua > 40d), B (FBC > 2000), T; mPmB: vP (> 60d), vB (> 5000).
Propiedades PMT / mPmM	(No disponible)	PMT: P, T, M (log Koc < 3); mPmM: vP, T, vM (log Koc < 2).

Históricamente, desde la década de 1960, la identificación del peligro se ha basado principalmente en estudios toxicológicos realizados en animales de laboratorio. Estos ensayos, armonizados mediante directrices

internacionales como las de la OCDE (OECD, 2025a), permiten evaluar los efectos agudos, subcrónicos y crónicos de la exposición a sustancias químicas en especies de laboratorio como ratas, ratones, conejos, perros, peces o dafnias. A través de estos estudios, se pueden identificar los efectos apicales, es decir, cambios fenotípicos, fisiológicos o clínicos que reflejan un daño toxicológico directo en la especie de ensayo utilizada. Estos hallazgos, además de permitir la clasificación, constituyen la base para definir los puntos de partida, que posteriormente se utilizan para derivar valores regulatorios y guiar decisiones de gestión de riesgos (More et al., 2022).

Con el avance del conocimiento científico y el incremento de las restricciones éticas relativas al uso de animales de experimentación, la identificación del peligro ha evolucionado hacia la incorporación de métodos alternativos y complementarios incluyendo enfoques *in vitro*, *in silico* y, de forma más limitada, *in vivo* focalizados. Los ensayos *in vitro* permiten estudiar mecanismos de toxicidad, incluyendo los de efectos locales específicos, como la irritación cutánea u ocular, la sensibilización, la genotoxicidad, diferentes modalidades de disrupción endocrina, efectos sobre receptores moleculares, o la activación o inhibición de la transcripción de genes concretos. Por su parte, los modelos *in silico* utilizan información estructural de las moléculas para predecir propiedades toxicológicas y posibles efectos adversos, proporcionando una primera aproximación útil para la priorización de sustancias y la optimización de las estrategias de ensayo. En el caso del potencial genotóxico, se emplean habitualmente baterías de ensayos *in vitro* combinadas con herramientas de modelización computacional, reservando los estudios *in vivo* únicamente para situaciones específicas y justificadas. En el ámbito de la industria cosmética, la prohibición del uso de animales para la evaluación de la seguridad ha impulsado de manera significativa la adopción y el desarrollo de estos métodos alternativos para evaluar endpoints locales, como irritación y sensibilización cutánea u ocular.

Aunque los datos procedentes de estudios en humanos son más limitados, su relevancia es innegable e incluyen estudios clínicos previos a la comercialización, evaluaciones de uso controlado, registros postcomercialización, y estudios epidemiológicos, los cuales permiten identificar efectos adversos raros o no previstos y contribuyen a refinar la identificación del peligro. De hecho, en las clases de peligro donde las categorías se basan en la evidencia disponible, se distinguen, mediante categorías diferenciadas, aquellas sustancias químicas para las que existe evidencia en seres humanos de aquellas clasificadas a partir de evidencia en modelos animales no confirmada en nuestra especie.

IDENTIFICACIÓN DEL PELIGRO

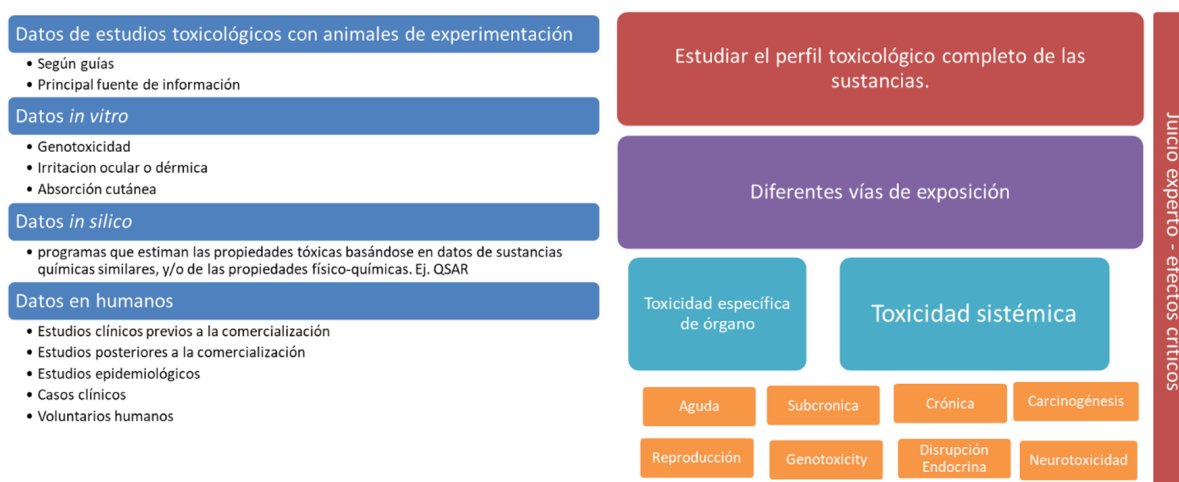


Figura 2. Integración de diferentes fuentes de información para la identificación del peligro toxicológico.

2.3.3. Caracterización del peligro

Una vez identificados los posibles efectos adversos de una sustancia, la caracterización del peligro busca traducir estos hallazgos en niveles de referencia aplicables a la regulación, determinando la dosis o concentración a partir de la cual se espera que los efectos adversos comiencen a aparecer. Para ello, los estudios utilizados en la identificación del peligro son diseñados con múltiples niveles de dosis capaces de generar efectos de distinta magnitud, lo que permite caracterizar la curva dosis-respuesta completa, tanto en la zona baja como en el alta.

Esta fase combina el análisis de la relación dosis-respuesta con la aplicación de factores de seguridad que contemplan la extrapolación entre especies, la variabilidad intraespecífica y las limitaciones de los datos disponibles

El primer paso para establecer los **puntos de partida** (*points of departure*, **PoD**), que constituyen la base para la derivación de valores regulatorios, es la evaluación de la relación dosis-respuesta de cada parámetro/ estudio, y su agregación cuando tenemos varios estudios complementarios. En función del diseño del estudio, podremos utilizar el NOAEL (*no observed adverse effect level*), definido como la dosis más alta a la que no se observan efectos adversos y el LOAEL (*lowest observed adverse effect level*), correspondiente a la dosis más baja en la que se detectan efectos adversos; o la *benchmark dose* (BMD), junto con su límite inferior de confianza (BMDL), que proporciona una estimación más robusta y estadísticamente fundamentada del umbral de efecto.

- El **NOAEL** identifica la dosis más alta en la que no se observan efectos adversos, basándose en que no existan diferencias significativas frente al grupo control, y representa la dosis inferior a la LOAEL, que es la que determina el tipo de efecto observado. Cuando en un estudio se miden diferentes parámetros, podemos obtener diferentes valores de NOAEL/LOAEL para cada parámetro, y seleccionamos los más bajos como el NOAEL/LOAEL relevante del estudio. Cuando existen varios estudios similares o complementarios, se pueden establecer además el NOAEL/LOAEL de cada parámetro, integrando los resultados de los diferentes estudios, estableciendo diferencias relevantes, por ejemplo, junto con el NOAEL/LOAEL global de reproducción, se pueden establecer además los correspondientes a toxicidad maternal, toxicidad para la progenie, fertilidad, o toxicidad a través de la lactación. Sin embargo, este enfoque depende del diseño del estudio, del espaciamiento entre niveles de dosis y del tamaño de muestra, y no refleja la forma completa de la curva dosis-respuesta. Cuando todos los niveles muestran efectos adversos, se recurre al LOAEL como referencia.
- La **BMD** y su límite inferior de confianza (BMDL) representan un método más robusto para definir PoD, basado en la modelización de la curva dosis-respuesta y en la calidad del estudio. A diferencia del NOAEL, la BMD es menos dependiente de la selección de dosis y del espaciado experimental, y permite considerar de manera explícita la forma de la curva dosis-respuesta. La estimación del BMDL, correspondiente al límite inferior del 95% de confianza, proporciona un PoD que incorpora la variabilidad y el tamaño de la muestra, aumentando la fiabilidad de la derivación de niveles seguros de exposición. Al igual que para el NOAEL/LOAEL, se establecen BMD/BMDL por parámetro/ estudio (Hardy et al., 2017b). Introducido como alternativa en la década de 1980, este enfoque se ha convertido en el preferido por numerosas agencias regulatorias, y su uso se ha facilitado gracias a programas de software especializados, como el BMDS de la EPA o el BMD and Bayesian BMD de la EFSA. Esta aproximación requiere un diseño de estudio con suficiente número de dosis, y no se adapta al diseño tradicional de muchas guías de la OECD que maximiza el número de animales por dosis, en vez del número de dosis, por lo que, a día de hoy, la mayor parte de las dosis de referencia disponibles aún se basa en el enfoque tradicional del NOAEL.

La selección de los PoD se lleva a cabo mediante la identificación del efecto crítico o apical más sensible a partir de los NOAEL/LOAEL y/o BMDL. Este proceso se realiza teniendo en cuenta la calidad, fiabilidad y relevancia de los datos disponibles. Para ello, se aplica un enfoque de peso de la evidencia (*weight of evidence*, WoE), que permite integrar de forma sistemática los distintos tipos de información toxicológica y valorar su coherencia global, garantizando que los PoD seleccionados representen de manera consistente y científicamente sólida el peligro potencial asociado a la toxicidad intrínseca de la sustancia evaluada (Hardy et al., 2017a; OECD, 2019b).

La caracterización del peligro integra no solo datos *in vivo*, *in vitro* e *in silico*, sino también información en humanos cuando está disponible. Se consideran aspectos de toxicocinética, mecanismos de acción y efectos críticos, lo que permite identificar las dosis umbrales de toxicidad y derivar niveles seguros de exposición o dosis de referencia, teniendo en cuenta el tiempo, la vía y el tipo de exposición.

Estas dosis de referencia se aplican a sustancias no genotóxicas para las que se considera que existe un umbral de toxicidad. El PoD correspondiente al efecto crítico, obtenido en la especie más sensible y por la vía de exposición evaluada, se divide entre un factor de incertidumbre, también denominado factor de seguridad. Entre ellos se incluyen la extrapolación entre especies, la variabilidad interindividual humana, la utilización de estudios subcrónicos para extrapolar a exposiciones crónicas, o la ausencia de datos específicos (Johanson et al., 2023). De manera genérica, se suele aplicar un factor de 100, considerando 10 para la variabilidad interespecie y 10 para la variabilidad intraespecie.

En el caso de sustancias genotóxicas o cancerígenas, se recurre a enfoques como el Margen de Exposición (MOE), que establece un umbral de preocupación más que un valor “seguro” absoluto (Bennekou et al., 2025).

Si hablamos de salud humana podemos encontrar diferentes dosis de referencia aplicadas a los diferentes contextos (IPCS, 2004). Las dosis de referencia como ADI, TDI y ARfD se utilizan para establecer niveles seguros de exposición en la población general en el ámbito alimentario:

1. Ingesta Diaria Aceptable (ADI, del inglés Acceptable Daily Intake): es la cantidad estimada de una sustancia química que puede consumirse diariamente durante toda la vida sin que se espere que cause efectos adversos para la salud. Su cálculo generalmente se basa en estudios toxicológicos crónicos en animales, que identifican el NOAEL aplicando los factores de seguridad adecuados para extrapolar los resultados a la población humana general.
2. Ingesta Diaria Tolerable (TDI del inglés Tolerable Daily Intake): es similar al ADI, pero se aplica a contaminantes presentes en alimentos o agua potable, como metales pesados o residuos de pesticidas.
3. Dosis de Referencia Aguda (ARfD, del inglés Acute Reference Dose): es la cantidad máxima de una sustancia que puede ingerirse en un solo día sin que se espere que cause efectos adversos para la salud. Se basa en estudios de toxicidad para exposiciones de corta duración en animales, identificando el NOAEL. En algunos casos, se han utilizado estudios en humanos para establecer el ARfD, especialmente cuando los efectos observados en animales no se correlacionan directamente con los humanos

En el caso de evaluar la seguridad de los trabajadores, podemos encontrar otros valores que son de utilidad, especialmente el AOEL (Acceptable Operator Exposure Level) se aplica para proteger a los trabajadores y operadores de sustancias químicas, como pesticidas o productos industriales. Define la cantidad máxima de sustancia que un trabajador puede estar expuesto sin riesgo de efectos adversos. Se basa en estudios de

toxicidad subcrónica en animales (NOAEL) y se aplican factores de seguridad para extrapolar a humanos (Charistou et al., 2022).

El en ámbito del Reglamento REACH se utiliza el nivel sin efecto derivado (DNEL) que es el nivel de exposición que fija el límite por encima del cual no deben quedar expuestos los seres humanos. Los DNEL de efectos sistémicos se expresan en mg/kg de peso corporal para las vías cutánea y las vías orales. Para las vías de inhalación (efectos tanto sistémicos como locales), los efectos se expresan en mg/m³ (ECETOC AISBL, 2010).

Si consideramos el medio ambiente nos podemos encontrar mayormente, la Concentración Estimada Sin Efectos (PNEC del inglés Predicted No-Effect Concentration), en este caso se trata de la concentración estimada de una sustancia química en el medio ambiente (agua, suelo, aire) por debajo de la cual no se esperan efectos adversos para los organismos acuáticos, terrestres o atmosféricos. Se basa en estudios ecotoxicológicos que determinan el NOEC (Concentración Sin Efectos Observados) o el LOEC (Concentración con Efectos Observados) en diversas especies representativas del ecosistema. Se aplican factores de seguridad para extrapolar los resultados a condiciones ambientales más generales.

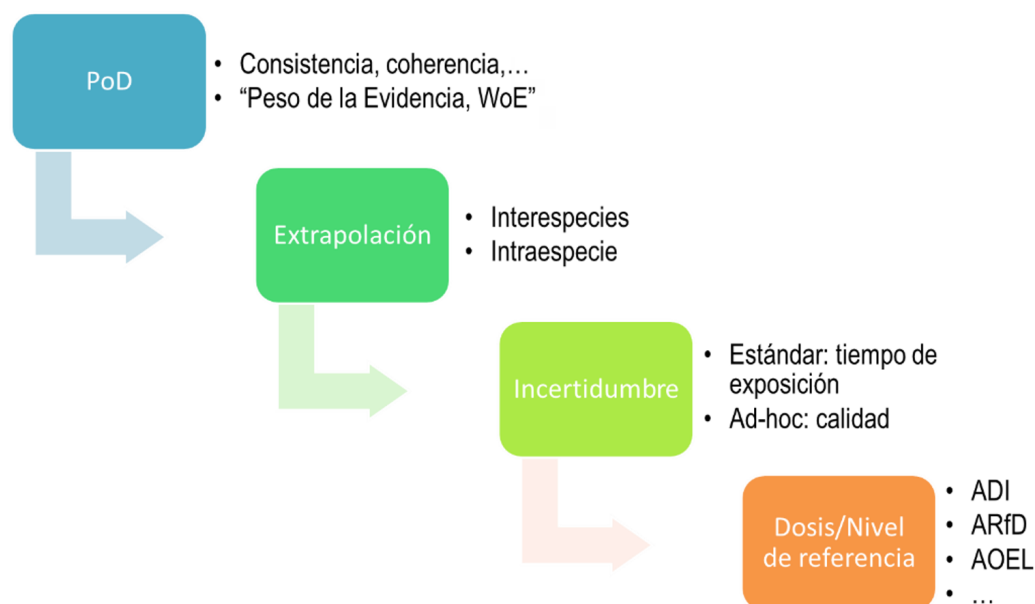


Figura 3. Derivación de la dosis o nivel de referencia a partir de los puntos de partida.

En última instancia, la caracterización del peligro convierte la información experimental en umbrales reguladores claros, que permiten comparar las exposiciones estimadas con niveles de referencia seguros, garantizando que la exposición a sustancias químicas no represente un riesgo significativo ni para la salud humana ni para el medio ambiente.

2.3.4. Evaluación de la Exposición

Hay un principio fundamental de la toxicología que guía esta etapa: "sin exposición, no hay riesgo". Una sustancia puede presentar una elevada toxicidad intrínseca, sin embargo, si no existe contacto con ella, no representa ninguna amenaza.

La evaluación de la exposición tiene como objetivo estimar la cantidad de sustancia a la que están realmente expuestas las personas, los animales, o al medio ambiente, así como la frecuencia y la duración de dicha exposición. Para ello, se consideran de forma sistemática distintos elementos clave, entre los que se incluyen en el caso de las evaluaciones de riesgo para salud humana:

- Quién está expuesto: trabajadores (que manipulan sustancias en su trabajo), consumidores (que usan productos con las sustancias), grupos de población de una zona concreta o con hábitos específicos, o la población general.
- Cómo ocurre la exposición: ingestión, inhalación o contacto dérmico.
- Durante cuánto tiempo y con qué frecuencia: exposiciones agudas (puntuales y breves), intermitentes (varias veces, pero no de manera constante) o crónicas (prolongadas y constantes).

En la práctica regulatoria, la primera aproximación (Nivel 1) se plantea de manera conservadora, es decir, bajo escenarios de “peor caso posible”. Por ejemplo, se supone que un consumidor utiliza un producto de la forma más intensa imaginable, consume un alimento con una alta frecuencia y contaminado con la máxima cantidad de plaguicida esperada, o que un trabajador se expone de manera continua a la concentración máxima previsible en su ambiente laboral. Este enfoque asegura que se añada un margen de seguridad adicional a través del escenario de exposición.

En algunos casos se dispone de datos reales de monitorización, es decir, mediciones obtenidas directamente a partir de matrices ambientales o procedentes de estudios de biomonitorización humana. No obstante, en evaluaciones de este nivel lo más habitual es que este tipo de información no esté disponible. Cuando no se dispone de información de monitorización, se recurre al uso de modelos de exposición, que permiten estimar concentraciones ambientales o dosis internas mediante la simulación de distintos procesos, como la dispersión de contaminantes en el aire, el transporte en aguas subterráneas, la ingestión de alimentos contaminados o el contacto dérmico con productos de consumo.

Existen diferentes modelos que se utilizan en la evaluación de la exposición, cada uno diseñado para contextos específicos. A continuación, se describen brevemente algunos de los más relevantes; no obstante, existen muchos otros que pueden emplearse en función del contexto, el tipo de sustancia y la vía de exposición que se desee evaluar.

En el ámbito ambiental, uno de los más empleados es EUSES (European Union System for the Evaluation of Substances), desarrollado en el marco de la legislación europea y gestionado por ECHA. Este sistema permite estimar la exposición tanto ambiental como humana a sustancias químicas, calculando concentraciones en aire, agua, suelo, sedimentos o incluso en organismos vivos. <https://echa.europa.eu/es/support/dossier-submission-tools/euses>.

En el campo de la exposición dietética, la EFSA dispone de varias herramientas. Por un lado, el FAIM (Food Additives Intake Model) se centra en estimar la ingesta de aditivos alimentarios en la población europea. Este modelo combina datos de consumo obtenidos en encuestas alimentarias con los niveles máximos permitidos o medidos de aditivos en los alimentos, lo que permite realizar estimaciones tanto conservadoras como más realistas. <https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-9583>. Por otro lado, el PRIMo (Pesticide Residue Intake Model) es la herramienta de referencia para evaluar la exposición a residuos de plaguicidas presentes en la dieta. Este modelo integra datos de consumo de distintos grupos de población (niños, adultos, ancianos) niveles de residuos en los alimentos tratados con el producto fitosanitario (ofreciendo opciones como resultados de estudios estandarizados con el cultivo (field trials), los límites máximos de residuos (MRLs), o

estudios de monitorización), estimando tanto la exposición aguda (un solo día) como la crónica (a lo largo de la vida). <https://www.efsa.europa.eu/en/applications/pesticides/tools>. Otra herramienta de referencia a nivel internacional son las Dietary Exposure Tools de la OMS, que se basan en las llamadas *Cluster Diets*. Este enfoque agrupa a los países en función de patrones alimentarios similares y permite estimar la ingesta dietética de contaminantes, aditivos o residuos de plaguicidas a nivel regional y mundial. De esta manera, se facilita la evaluación comparativa de la exposición en diferentes poblaciones, incluso cuando no se dispone de encuestas alimentarias nacionales detalladas [WHO GEMS/Food Cluster Diets](#).

Cuando el foco está en la exposición a productos fitosanitarios durante su uso, el modelo de referencia es el EFSA OPEX (Operator Exposure Model). Esta herramienta permite calcular la exposición de operadores, trabajadores, residentes o transeúntes que están en contacto con pesticidas, ya sea durante la aplicación o por contacto posterior con cultivos tratados. El modelo integra diferentes vías de exposición, como inhalación o absorción dérmica, y utiliza datos experimentales junto con aproximaciones estadísticas (EFSA, 2022).

- Finalmente, en el ámbito de la exposición no dietética, existen otras herramientas que complementan este panorama. El ECETOC TRA (Targeted Risk Assessment), recomendado por ECHA, ofrece un enfoque de primer nivel para estimar la exposición ocupacional, del consumidor y ambiental a diferentes sustancias químicas <https://www.ecetoc.org/tools/tra/>. Por su parte, ConsExpo, desarrollado por el RIVM en Países Bajos, permite modelizar la exposición de los consumidores a sustancias contenidas en productos de uso diario, como cosméticos, productos de limpieza, pinturas o biocidas <https://www.rivm.nl/en/consexpo>. En el caso particular de la exposición dérmica en el lugar de trabajo, existe el modelo RiskofDerm, creado específicamente para estimar los riesgos derivados del contacto de la piel con productos químicos <https://www.riskofderm.org>.

En resumen, mientras que en la evaluación del peligro se pregunta “¿qué daño puede causar la sustancia?”, en la evaluación de la exposición la cuestión central es “¿cuánto de esa sustancia llega realmente a las personas o al medio ambiente?”, estimando esta cantidad con modelos adecuados cuando no existan mediciones reales disponibles.

2.3.5. Caracterización del Riesgo

La caracterización del riesgo constituye la última etapa del proceso de evaluación del riesgo. En esta fase se integran las conclusiones obtenidas en la identificación del peligro y en la evaluación de la exposición, con el fin de predecir la frecuencia y la gravedad de los efectos adversos en las poblaciones humanas y en los ecosistemas expuestos. El objetivo es determinar la probabilidad de que se produzcan efectos bajo condiciones de exposición similares a las evaluadas y, en consecuencia, aportar una base sólida para la toma de decisiones en materia de gestión del riesgo.

En el Nivel 1, esta caracterización se desarrolla habitualmente con un enfoque determinista, transformando la información disponible en escenarios únicos, generalmente basados en el “peor caso posible”. Este procedimiento asegura un margen de protección suficiente para la población general y los ecosistemas, aunque introduce un grado importante de conservadurismo.

En general, para los efectos no cancerígenos, la estrategia consiste en comparar la exposición estimada (sección 2.3.4) con valores de referencia (sección 2.3.3) derivados para diferentes duraciones de exposición:

- **Aguda:** efectos que se manifiestan en cuestión de días o semanas.
- **Intermedia:** efectos que aparecen entre semanas y hasta un año.

- **Crónica:** efectos que se desarrollan a lo largo de un año o más.

El procedimiento de caracterización del riesgo en estos casos se resume en la comparación directa entre la exposición estimada y el valor de referencia:

- Si la exposición es menor que el valor de referencia se concluye que el riesgo es aceptable en las condiciones evaluadas.
- Si la exposición es igual o mayor, el riesgo se considera no aceptable y se recomienda refinar la evaluación, o la implementación de medidas de gestión que pueden incluir la reducción de la exposición, estrategias de mitigación, restricción de usos o incluso prohibición de la sustancia.

En este marco general, el Nivel 1 se aplica en la práctica mediante distintas aproximaciones específicas según el tipo de exposición y compartimento evaluado.

En el ámbito de la salud humana, para exposiciones crónicas se emplean valores como la ADI o la TDI, que se comparan con estimaciones de exposición media agregada procedente de todas las fuentes alimentarias relevantes (enfoque de dieta total), proporcionando una primera aproximación protectora del riesgo a largo plazo. Para exposiciones agudas, se utiliza la ARfD, que se contrasta con estimaciones de ingesta elevada asociadas al consumo puntual de un alimento concreto con niveles máximos de residuo, incorporando escenarios de alto consumo y concentraciones máximas. En el caso de la exposición ocupacional, la comparación con el AOEL se realiza habitualmente frente a percentiles elevados de la distribución de la exposición (por ejemplo, escenarios representativos del extremo superior de la población expuesta), con el fin de asegurar un margen adecuado de protección para los trabajadores.

Para la evaluación del riesgo ambiental, la caracterización de Nivel 1 se basa en la utilización de cocientes de riesgo sencillos que permiten una identificación rápida de situaciones potencialmente problemáticas, mediante la comparación entre estimaciones conservadoras de exposición ambiental y valores de efecto derivados de estudios ecotoxicológicos en distintas especies y niveles tróficos. En los marcos generales de evaluación de sustancias químicas, este enfoque se expresa habitualmente como el cociente **PEC/PNEC**, donde la concentración ambiental prevista (PEC) en compartimentos como agua, suelo o sedimentos se compara con la concentración por debajo de la cual no se esperan efectos adversos (PNEC). Estos valores se derivan aplicando factores de evaluación para cubrir la variabilidad inter- e intra-especie y la incertidumbre asociada a la extrapolación de resultados de laboratorio a condiciones ambientales reales. En este contexto, valores de PEC/PNEC ≤ 1 indican, de forma conservadora, un riesgo ambiental aceptable en las condiciones evaluadas, mientras que valores > 1 señalan un riesgo potencial y activan la necesidad de refinar la evaluación o de aplicar medidas de mitigación.

En el marco de los productos fitosanitarios, la caracterización del riesgo ambiental no se formula mediante PNEC, sino mediante cocientes de riesgo específicos como el **TER** (Toxicity–Exposure Ratio) o el **HQ** (Hazard Quotient), obtenidos al relacionar concentraciones ambientales previstas con valores de efecto derivados a partir de estudios ecotoxicológicos para organismos diana y no diana (como peces, invertebrados acuáticos, algas, aves o artrópodos beneficiosos). La aceptabilidad del riesgo se determina mediante la comparación de estos cocientes con **valores críticos de aceptación del riesgo (RAC)** definidos para cada grupo de organismos y tipo de exposición. Cuando los cocientes calculados no superan los umbrales de aceptación establecidos, el riesgo se considera aceptable en este nivel de cribado conservador; por el contrario, la superación de dichos umbrales indica un riesgo potencial y desencadena la necesidad de refinar la evaluación (por ejemplo, mediante escenarios de exposición más realistas o estudios adicionales) y/o de aplicar medidas de gestión del riesgo, como restricciones de uso, establecimiento de zonas tampón o medidas de mitigación ambiental.

2.3.6. Sustancias con efectos genotóxicos-cancerígenos

Cuando los compuestos químicos presentan potencial carcinogénico por mecanismos de genotoxicidad para los que se considera que no existe un umbral toxicológico, la caracterización del riesgo sigue enfoques específicos. Un método ampliamente utilizado es Margen de Exposición (MOE) (EFSA, 2005), que se calcula dividiendo el PoD o también llamado en ocasiones punto de referencia (PR) (generalmente derivado de estudios animales) por la exposición humana estimada. Según la EFSA, valores de MOE iguales o superiores a 10 000, cuando se basan en un BMDL correspondiente a un 10 % de incidencia adicional de tumores en animales, se consideran de baja preocupación desde el punto de vista de la salud pública. Sin embargo, el MOE no cuantifica el riesgo, sino que orienta sobre el nivel de preocupación y la necesidad de medidas de gestión.

En el caso de efectos sin umbral, la ECHA propone la utilización del nivel con efecto mínimo derivado (DMEL) y ha desarrollado guías para armonizar la metodología para derivar estos valores (ECHA, 2012).

Para las sustancias carcinogénicas (EPA, 2005), se aplican además factores que permiten estimar la probabilidad de desarrollar cáncer según la vía de exposición.

- En exposición por inhalación, se utiliza el Inhalation Unit Risk (IUR), que estima el riesgo adicional de cáncer por cada microgramo de sustancia presente en un metro cúbico de aire. Por ejemplo, un IUR de $2 \times 10^{-6} \mu\text{g}/\text{m}^3$ indica que, por cada microgramo de la sustancia por metro cúbico de aire, se espera que se desarrollen dos casos adicionales de cáncer por cada millón de personas expuestas durante toda su vida. Este enfoque es especialmente útil para evaluar riesgos derivados de contaminantes atmosféricos o emisiones industriales inhaladas de manera crónica.
- En exposición por ingestión, se utiliza el Oral Cancer Slope Factor (CSF), que cuantifica la potencia carcinogénica de una sustancia ingerida, expresada en $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}^{-1}$, y permite estimar el riesgo asociado con la ingesta diaria crónica. La exposición estimada a lo largo de la vida se multiplica por el CSF para calcular el riesgo de cáncer adicional.

Ambos factores —IUR y CSF— forman parte de un enfoque simplificado de base probabilística que no establece un umbral seguro para los efectos cancerígenos, sino que asume que cualquier nivel de exposición conlleva una probabilidad, aunque sea muy baja, de incrementar el riesgo. De esta manera, permiten estimar incrementos de riesgo a partir de exposiciones bajas mediante relaciones dosis-respuesta lineales, proporcionando una estimación conservadora que permite identificar situaciones de mayor preocupación y orientar la adopción de medidas de gestión del riesgo para proteger la salud pública.

2.4. Análisis de la incertidumbre

La caracterización del riesgo no es un proceso libre de limitaciones. Por el contrario, **la incertidumbre está presente en todas las etapas de la evaluación de riesgo**, desde la calidad de la información toxicológica hasta la estimación de la exposición y la extrapolación de resultados animales a humanos y desde el laboratorio a las condiciones reales. Estas incertidumbres pueden tener un origen biológico, reflejando la variabilidad intra- e interindividual y nuestras limitaciones de conocimiento, estadístico, derivado de la parametrización de los escenarios de exposición, o bien de las limitaciones en los datos experimentales y en los modelos utilizados.

Es fundamental identificar qué componentes del proceso implican el mayor grado de incertidumbre, ya que de ello depende la confianza que se puede otorgar a las conclusiones. Por ejemplo, el uso de factores de seguridad para derivar valores de referencia introduce un nivel de conservadurismo que compensa la falta de información, pero que también limita la precisión en la predicción del riesgo real.

Un análisis sistemático de la incertidumbre no solo aporta transparencia, sino que también permite priorizar la generación de nueva información y mejorar progresivamente las evaluaciones. En definitiva, reconocer, describir y, en la medida de lo posible, cuantificar la incertidumbre constituye un requisito indispensable para la solidez científica y la utilidad práctica de la caracterización del riesgo.

2.5. Fortalezas y limitaciones del enfoque tradicional

La evaluación de riesgo de Nivel 1, ha sido durante décadas la piedra angular de la regulación química. Tal y como hemos visto se apoya principalmente en estudios *in vivo* con animales de laboratorio, realizados siguiendo protocolos armonizados, fundamentalmente los de OCDE. Gracias a esta larga trayectoria, se ha acumulado una enorme base de datos que ha permitido estandarizar procedimientos, formar evaluadores y gestores de riesgo, y establecer criterios claros que brindan seguridad jurídica tanto a los evaluadores como a las empresas que solicitan autorizaciones. La fortaleza de este enfoque radica en su claridad y previsibilidad: permite transformar la información científica en valores de referencia prácticos que pueden emplearse directamente para decidir si un riesgo es aceptable y en qué condiciones puede autorizarse el uso de una sustancia química.

Los ensayos con animales han sido, y continúan siendo, valiosos. Permiten controlar con precisión la exposición y las condiciones ambientales, y hay guías disponibles para la evaluación de muchos efectos adversos. La toxicología regulatoria ha logrado así identificar de manera sistemática los efectos críticos y caracterizar las relaciones dosis-respuesta que son esenciales para la protección de la salud humana. Más allá de los datos, la experiencia acumulada durante más de setenta años ha generado un juicio experto robusto que guía las decisiones regulatorias y asegura un marco coherente y confiable.



Figura 4. Factores que han fundamentado históricamente la evaluación del riesgo basada en modelos animales.

Sin embargo, este enfoque también tiene limitaciones evidentes. Gran parte de la evaluación normativa parte de la premisa de que los resultados observados en animales son representativos de los humanos, y aunque esto ha sido históricamente útil, no siempre es una suposición acertada. Esos estudios no nos permiten comprender los mecanismos subyacentes por los cuales una sustancia produce los efectos adversos apicales o si los niveles de exposición estudiados son equivalentes a los que experimentarían las personas en la vida real. Para algunos tipos de efectos como la inmunotoxicidad, los modelos animales tienen serias limitaciones, y para otros como la neurotoxicidad, los efectos observados son muy diferentes de los considerados relevantes en humanos. Además, los estudios tradicionales son costosos y prolongados, y simplifican la compleja realidad biológica. Su capacidad para abordar situaciones más complejas, como la exposición a mezclas de sustancias o interacciones químicas, es limitada.

En paralelo, la investigación toxicológica ha evolucionado rápidamente en los últimos años. Hoy, más del 80% de los estudios se realizan utilizando métodos alternativos, que incluyen enfoques *in vitro*, modelos *in silico* y herramientas ómicas. Estas metodologías permiten una visión más mecanística y detallada de la toxicidad, generando grandes cantidades de datos que podrían mejorar la evaluación de riesgo si se integraran de manera efectiva en los procesos regulatorios. Algunos avances ya se han incorporado, por ejemplo, en la evaluación de genotoxicidad, donde se combinan datos *in silico* con baterías de ensayos *in vitro*, y solo cuando es necesario se recurren a ensayos *in vivo* más focalizados. También en áreas como la cosmética se han alcanzado logros significativos, al prohibirse el uso de animales para testar nuevas sustancias y centrarse en endpoints más específicos, como irritación o sensibilización dérmica y ocular.

Aun así, la integración de estos nuevos enfoques sigue siendo limitada, y la evaluación de riesgo de Nivel 1 continúa siendo el filtro inicial que determina qué sustancias pueden entrar al mercado y en qué condiciones. Su carácter conservador y normativo asegura un amplio nivel de protección, y aunque simplifica la realidad, su claridad permite decisiones regulatorias sólidas y confiables. En definitiva, mientras los niveles más avanzados de evaluación permiten análisis más finos, cuantitativos y mecanísticos, el Nivel 1 sigue siendo un punto de partida sólido desde el cual es posible construir evaluaciones más complejas que incorporen las herramientas y conocimientos innovadores que la ciencia moderna pone a nuestra disposición.

3. Metodologías probabilísticas de nivel 2

3.1. Diferencias entre metodologías deterministas y probabilísticas

3.1.1. Introducción a los enfoques probabilísticos

La evaluación del riesgo es un proceso complejo que busca caracterizar la probabilidad y severidad de efectos adversos para la salud humana y los ecosistemas como consecuencia de la exposición a agentes químicos, físicos o biológicos. Tradicionalmente, este análisis se ha realizado mediante enfoques deterministas (nivel 1), los cuales utilizan valores únicos para estimar la exposición y comparar estos valores frente a niveles de referencia establecidos utilizando el escenario más pesimista para así determinar el riesgo (Figura 5a). Este tipo de evaluación, conocido como de nivel 1, ofrece una estimación rápida y comprensible del riesgo, facilitando la toma de decisiones preliminares en contextos regulatorios (KEMI, 2020), como se ha explicado en el capítulo 2.

La simplificación de la información disponible sobre la exposición y sobre la peligrosidad a valores únicos conlleva limitaciones importantes, ya que no captura la variabilidad inherente en los datos de exposición ni la incertidumbre asociada a las estimaciones de toxicidad o de comportamiento de los contaminantes aun cuando la información esté disponible. Por ejemplo, la utilización de niveles de exposición basados en un valor medio o en un percentil implica que en realidad tenemos información sobre cómo se distribuyen los niveles de exposición, y la utilización de una NOAEL o BMDL implica que tenemos además datos sobre la pendiente de la curva dosis respuesta que no utilizamos. Es en este contexto donde emergen las metodologías probabilísticas, agrupadas como evaluaciones de nivel 2, las cuales permiten representar explícitamente tanto la variabilidad natural (ej., diferencias en hábitos de consumo o metabolismo entre individuos) como la incertidumbre analítica o la falta de información (por ejemplo, errores de muestreo o falta de datos) (US EPA, 2014) (Figura 5b). Estos enfoques no sustituyen, sino que complementan a los deterministas, proporcionando mayor precisión, transparencia y realismo en la caracterización del riesgo, especialmente cuando las decisiones tienen implicaciones sanitarias o ambientales significativas (Bruce et al., 2007; Heo et al., 2021).

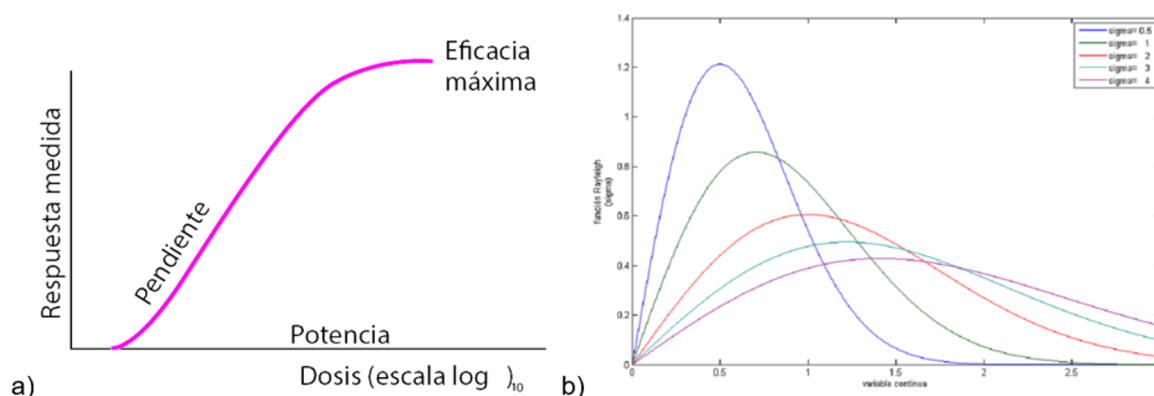


Figura 5. Comparación entre una evaluación determinista vs probabilístico. a) Representa la curva tradicional determinista dosis-respuesta con una exposición media. b) Representa una evaluación probabilística en el que se maneja toda la probabilidad (Machado and Bueno, 2012.).

3.2. Métodos de evaluación de exposición probabilísticos (nivel 2)

3.2.1. Distribución de exposiciones

En el marco probabilístico, la exposición deja de representarse como un único valor y se describe mediante distribuciones de probabilidad que reflejan la variabilidad interindividual y temporal. Los parámetros clave incluyen concentración y su evolución temporal, frecuencia de contacto y tasas de ingestión, inhalación o absorción (US EPA, 2014).

Para reflejar esta variabilidad, los parámetros de exposición se describen mediante distribuciones de probabilidad, las cuales pueden derivarse de datos empíricos (ej., encuestas dietéticas, monitoreo ambiental, estudios de actividad humana) o, en ausencia de datos, de literatura científica, valores de referencia regulatorios o supuestos razonables. Las distribuciones más comunes incluyen:

- Normal (gaussiana): variables simétricas como peso corporal.
- Log-normal: concentraciones ambientales y datos con asimetría positiva.
- Uniforme: cuando solo se conocen rangos mínimo–máximo.
- Triangular o PERT: útiles cuando existe escasa información pero estimaciones plausibles (Wehrspohn and Ernst, 2022).

Básicamente, cualquiera de las ecuaciones en las que se basan las estimaciones de exposición humana o ambiental se pueden transformar en estimaciones probabilísticas utilizando una función de probabilidad en lugar de un valor fijo para uno o varios parámetros. Un ejemplo de fórmula empleada es la dosis estimada de exposición diaria (EDD) (SESA, 2016):

$$EDD = \frac{C \times TC \times FE}{PC} \text{ (ecuación 1)}$$

- C = Concentración del contaminante en el medio contaminado (alimento, agua, aire, suelo) (mg contaminante/Kg; µg contaminante/m³, mg contaminante/L).
- TC = Tasa promedio de contacto (ingesta promedio diaria de un producto alimenticio o grupo de alimentos (Kg/día); inhalación promedio de aire (m³/día), ingesta de agua diaria (L/día))
Generalmente los datos de consumo de alimentos se pueden obtener de encuestas de consumo.
- FE = factor de exposición (sin unidad).
- PC = peso corporal (kg).

Donde cada parámetro (concentración, tasa de contacto, factor de exposición, peso corporal) se puede tratar como variable aleatoria.

La técnica de análisis de Monte Carlo permite propagar la variabilidad e incertidumbre al ejecutar miles de iteraciones con valores aleatorios de los parámetros de entrada. El resultado es una distribución de niveles de exposición, que puede analizarse en términos de medias, medianas, percentiles o probabilidades de exceder umbrales de riesgo (Harrison, 2010). Además de justificar la selección de la distribución de probabilidad de cada uno de los parámetros, hay que considerar las posibles conexiones entre los mismos, implementando la integración de forma que se evite que la selección aleatoria realice combinaciones irreales, o considerando en detalle los resultados obtenidos y descartando aquellos ligados a combinaciones imposibles.

Este enfoque ha permitido:

- Capturar variabilidad interindividual (fisiológica, dietética, conductual).
- Incorporar diferencias espaciales y temporales (ej., distribución de contaminantes ambientales).
- Integrar múltiples rutas de exposición (oral, respiratoria, dérmica).

Además, posibilita la realización de un análisis de sensibilidad para priorizar variables críticas, optimizando la recolección de datos (Ma et al., 2000).

En resumen, los métodos de evaluación de exposición de nivel 2 permiten modelar la complejidad real de la exposición humana y la de los sistemas ambientales y biológicos, superando las simplificaciones excesivas de los enfoques deterministas.

3.2.2. Beneficios y aplicaciones de los enfoques probabilísticos

- Representación realista de la exposición: los factores de riesgo (consumo, metabolismo, concentraciones ambientales) se modelan como distribuciones de probabilidad, no como valores únicos (Flinders et al., 2025; Jager et al., 2001).
- Caracterización explícita de variabilidad e incertidumbre: se distingue entre propiedades intrínsecas del sistema y falta de conocimiento.
- Análisis de sensibilidad: herramientas como la simulación Monte Carlo o el análisis de Sobol identifican los parámetros más influyentes en los resultados (Khalid, 2023; López Cruz et al., 2012).
- Mayor información para dar soporte a la gestión: los resultados se expresan como intervalos de confianza o probabilidades de excedencia, lo que facilita decisiones basadas en coste-beneficio o principios precautorios.
- Comunicación transparente: gráficas de distribuciones y probabilidades permiten una comprensión más clara por parte de gestores y público (Thompson and Graham, 1996).

En cuanto a sus aplicaciones, los métodos probabilísticos han sido ampliamente utilizados en:

- Riesgo alimentario: ingesta de mercurio en pescado o residuos de plaguicidas (Moreno-Ortega et al., 2017).
- Calidad del aire: dosis inhaladas de NO₂ y PM_{2,5} con variación temporal y espacial (Ernyasih et al., 2023).
- Agua potable y recreativa: exposición a nitratos, arsénico o contaminantes microbiológicos (Li et al., 2019).
- Suelos contaminados: evaluación de escenarios residenciales e industriales (Mohammadi et al., 2022).
- Poblaciones vulnerables: modelados diferenciados para niños, ancianos o inmunocomprometidos (Iribarren et al., 2008).

En suma, los enfoques probabilísticos no solo representan una herramienta metodológica avanzada, sino también una necesidad para responder de forma más eficaz y responsable a los desafíos de la sanidad ambiental contemporánea. A medida que aumenta la disponibilidad de datos y la capacidad computacional, se espera una progresiva adopción de estos métodos en ámbitos regulatorios, académicos e industriales.

3.2.3. Métodos de evaluación probabilística de efectos

La evaluación probabilística de efectos aborda la segunda etapa crítica de la caracterización del riesgo, traducir esas dosis o concentraciones internas en probabilidades de ocurrencia de efectos adversos en salud (Chiu and Slob, 2015).

Este enfoque reconoce que la respuesta biológica a una sustancia no es uniforme entre los individuos, sino que está modulada por factores como la variabilidad genética, el estado fisiológico, la edad, el sexo, las comorbilidades y las interacciones con otras exposiciones químicas o ambientales. Por lo tanto, el efecto no puede representarse únicamente por un umbral fijo (ej. NOAEL o LOAEL), sino como una curva de probabilidad de respuesta.

Además, se consideran las distribuciones dosis – respuesta, donde dependiendo del parámetro seleccionado el incremento de la respuesta con la dosis representa diferentes niveles de severidad o diferentes frecuencias de ocurrencia.

En el marco probabilístico, las relaciones dosis-respuesta basadas en frecuencia se representan mediante funciones de distribución que describen la probabilidad de observar un efecto adverso a diferentes niveles de dosis. Entre los modelos más utilizados se encuentran:

- Modelos logísticos y probit: ampliamente usados en toxicología y epidemiología para describir respuestas binarias (efecto/no efecto) (Lu et al., 2025).
- Modelos de Weibull y log-logísticos: útiles para describir respuestas con colas asimétricas, comunes en datos de toxicidad.
- Benchmark Dose (BMD) probabilístico: en lugar de un único valor de referencia, se obtiene una distribución de valores BMD, con intervalos de confianza que reflejan la incertidumbre y variabilidad.

El resultado no es un umbral determinista, sino una curva de probabilidad acumulada que permite estimar, por ejemplo, la probabilidad de que un 1%, 5% o 10% de la población desarrolle un efecto adverso a una dosis dada.

3.2.4. Integración con la simulación Monte Carlo

Al igual que en la evaluación probabilística de exposición, la simulación de Monte Carlo constituye una herramienta clave para los efectos. Se ejecutan iteraciones obteniendo una distribución de probabilidades de ocurrencia de efectos adversos, en lugar de una estimación puntual.

Esto permite calcular indicadores como:

- Probabilidad de exceder un nivel de riesgo aceptable (ej. 1 caso en 100.000).
- Distribución de riesgos en la población, con percentiles que representan a los más vulnerables.
- Comparación entre escenarios de gestión (ej., reducción de emisiones produce una disminución en la probabilidad de efectos).

3.2.5. Aplicaciones prácticas

- En salud ambiental, este enfoque se ha aplicado para estimar la probabilidad de efectos adversos en la salud por exposición a contaminantes atmosféricos, considerando la distribución de susceptibilidades en la población (Nielsen et al., 2023).

- En toxicología alimentaria, la EFSA ha implementado metodologías probabilísticas para evaluar riesgos de plaguicidas y contaminantes emergentes en dietas, integrando distribución de ingestas y de potencias tóxicas (Cao et al., 2007).
- En ecotoxicología, las curvas de sensibilidad de especies (Species Sensitivity Distributions, SSD) constituyen un ejemplo clásico. Ajustan distribuciones probabilísticas a datos de toxicidad de múltiples especies, para derivar valores de referencia como el HC5 (concentración protectora para el 95% de las especies).

3.2.6. Ventajas y limitaciones

Las evaluaciones probabilísticas de efectos ofrecen:

- Una caracterización más realista de la incertidumbre y variabilidad en la respuesta biológica.
- La posibilidad de realizar análisis de sensibilidad, identificando qué parámetros (ej. variabilidad genética, tasa metabólica) más influyen en la probabilidad de efecto.
- Una base más sólida para decisiones regulatorias, al permitir gestionar riesgos en función de probabilidades y no solo de valores umbral fijos.

No obstante, requieren grandes volúmenes de datos de toxicidad o epidemiología y un marco computacional adecuado, lo que puede limitar su aplicación en contextos con información escasa.

3.3. Caracterización del riesgo con incertidumbre

3.3.1. Modelos probabilísticos vs. deterministas

En el contexto de la evaluación de riesgos para la salud humana y ambiental, la caracterización del riesgo constituye la etapa final del proceso, en la que se integran los datos de exposición y toxicidad para estimar la probabilidad de que ocurran efectos adversos en las poblaciones evaluadas. Como vimos, en los modelos deterministas (nivel 1), esta caracterización se realiza a través de fórmulas simples que combinan valores únicos para la exposición estimada con valores de referencia toxicológica. Los modelos probabilísticos (nivel 2), en cambio, representan tanto la exposición como la toxicidad mediante distribuciones de probabilidad (Bruce et al., 2007; Heo et al., 2021). De este modo, se obtiene no solo un único cociente de riesgo (HQ, Hazard Quotient), sino toda su distribución, lo que permite estimar:

- El cálculo de una distribución del cociente de riesgo, en lugar de un único valor.
- La estimación de la probabilidad de que $HQ > 1$, es decir, la probabilidad de que la exposición supere un umbral de referencia y, por tanto, implique un posible efecto adverso.
- La generación de métricas de decisión basadas en el riesgo acumulado y en la incertidumbre, que pueden informarse con intervalos de confianza y probabilidades específicas para diferentes percentiles poblacionales (Hope, 2000).

Este tipo de modelado es especialmente relevante en contextos donde hay una gran heterogeneidad en la exposición (ej., exposiciones múltiples por aire, agua y alimentos) o donde los valores toxicológicos son inciertos o derivados de extrapolaciones interespecie e interpoblacionales.

3.3.2. Uso de distribuciones de probabilidad en toxicidad y exposición

Mientras la sección anterior se centró en la modelización probabilística de la exposición o de los efectos, es importante enfatizar la combinación de ambas opciones.

La combinación de las distribuciones de exposición y toxicidad se puede realizar mediante simulaciones de Monte Carlo, obteniéndose así una distribución del índice de riesgo (Solomon et al, 2000):

$$HQ = \frac{\text{Dosis de exposición (mg/kg/day)}}{\text{Valor de referencia toxicológica (mg/kg/day)}} \quad (\text{ecuación 2})$$

Donde ambos elementos (numerador y denominador) son variables aleatorias, lo que genera un cociente también aleatorio, por lo que su distribución puede ser evaluada en términos probabilísticos.

En el numerador, se puede incluir la variabilidad en el PoD cuando se dispone de diferentes valores o de una cuantificación de la incertidumbre, o de elementos específicos, por ejemplo, la variabilidad individual en la absorción y metabolismo basado en estudios en voluntarios (Tarazona et al., 2022).

En el denominador se puede considerar la variabilidad ligada a hábitos, condiciones o la espacio-temporal, por ejemplo, en evaluaciones de riesgo locales en zonas contaminadas, se han propuesto diferentes opciones para combinar probabilísticamente la información existente sobre exposición y sobre efectos (Zolezzi et al., 2005).

Estos modelos ofrecen capacidades adicionales, entre ellas:

- Estimar la fracción de población con $HQ > 1$.
- Desglosar contribuciones al riesgo por rutas (oral, inhalatoria, dérmica) o fuentes específicas.
- Comparar riesgos entre grupos de edad, sexo o regiones.
- Simular reducciones de exposición y cuantificar su efecto sobre la distribución del riesgo (Barrio-Parra et al., 2019; Yang et al., 2018).

En suma, la caracterización probabilística del riesgo no solo indica cuánto riesgo existe, sino también con qué grado de certeza se conoce, ofreciendo una base metodológica más sólida para la gestión regulatoria y la protección de poblaciones vulnerables.

3.4. Herramientas y software para evaluaciones de nivel 2

3.4.1. Introducción a herramientas como @RISK o Crystal Ball

La evaluación de riesgos para la salud humana y ambiental basada en metodologías probabilísticas de nivel 2 requiere no sólo una sólida comprensión teórica de la variabilidad e incertidumbre, sino también herramientas computacionales que permitan simular dichas condiciones en entornos cuantitativos robustos. En este contexto, el desarrollo de software especializado ha sido fundamental para la integración de la estadística avanzada, el análisis de Monte Carlo y el modelado en el campo de la sanidad ambiental.

Entre las herramientas más utilizadas destacan @RISK y Crystal Ball, programas que operan como complementos de Microsoft Excel, lo que los hace accesibles a un amplio espectro de usuarios, desde consultores y gestores de la evaluación de riesgos hasta investigadores académicos y técnicos de salud pública (tabla 3).

@RISK (Palisade Corporation)

@RISK (@RISK, 2025) es una de las herramientas más ampliamente utilizadas para simulaciones de Monte Carlo en evaluaciones de riesgos. Permite a los usuarios asignar distribuciones de probabilidad a celdas de Excel, realizar miles de iteraciones del modelo y obtener distribuciones de salida, percentiles, análisis de sensibilidad y visualizaciones gráficas. Entre sus características más destacadas se encuentran:

- Biblioteca extensiva de distribuciones: incluye más de 30 tipos de distribuciones (normal, log-normal, beta, triangular, uniforme, etc.) para modelar la incertidumbre y la variabilidad en los parámetros de exposición y toxicidad.
- Simulaciones rápidas y optimizadas: puede realizar miles de iteraciones en segundos, permitiendo análisis probabilísticos en tiempo real.
- Análisis de sensibilidad y correlación: identifica cuáles variables de entrada tienen el mayor impacto sobre el riesgo final, facilitando la priorización de medidas de mitigación.
- Integración con DecisionTools Suite: puede combinarse con otros productos de Palisade como RISKOptimizer (optimización estocástica) y StatTools (análisis estadístico avanzado).

En contextos de sanidad ambiental, @RISK se ha utilizado para evaluar la exposición a contaminantes en agua potable, para modelar la probabilidad de efectos adversos en poblaciones sensibles y para calcular el riesgo de superación de umbrales toxicológicos bajo múltiples escenarios de incertidumbre.

Crystal Ball (Oracle)

Crystal Ball (Crystal Ball, 2025), desarrollado por Oracle, es otra herramienta para análisis cuantitativo de riesgos, utilizada tanto en evaluación ambiental como en ingeniería, economía y finanzas. Al igual que @RISK, se integra con Excel y ofrece funcionalidades clave como:

- Simulación Monte Carlo automatizada: permite iterar modelos definidos en hojas de cálculo mediante muestreo aleatorio de distribuciones de entrada.
- Análisis de sensibilidad global: ofrece resultados detallados sobre la contribución relativa de cada variable al riesgo total.
- Previsión y optimización: funcionalidades para evaluar escenarios futuros y encontrar soluciones que minimicen el riesgo o maximicen la seguridad ambiental.
- Interfaces gráficas intuitivas: ideal para usuarios sin formación estadística profunda, con paneles de control visuales para interpretar resultados.

Crystal Ball es ampliamente usado por agencias ambientales y empresas de consultoría, así como centros de investigación, para modelar riesgos en calidad del aire, uso de pesticidas, gestión de residuos peligrosos y planificación de respuesta ante emergencias químicas.

Otras herramientas especializadas

Aunque @RISK y Crystal Ball son referencias consolidadas, existen otras herramientas importantes que han ganado protagonismo en las últimas décadas en la evaluación probabilística de riesgos:

- ProUCL (<https://www.epa.gov/land-research/proucl-software>): también desarrollado por la EPA, utilizado para el análisis estadístico de datos ambientales con distribuciones no normales, y para la estimación de valores conservadores (Upper Confidence Limits) en suelos y aguas subterráneas.
- R (<https://www.r-project.org/>) y Python (<https://es.python.org/>): lenguajes de programación con bibliotecas específicas para análisis probabilístico (ej., mc2d, ftdistrplus, rjags, PyMC, NumPyro). Estos entornos permiten personalizar modelos complejos, ejecutar simulaciones avanzadas y realizar inferencia bayesiana.
- CalTOX (<https://dtsc.ca.gov/caltox/>) y Risk-Screening Environmental Indicators (RSEI) (<https://www.epa.gov/rsei>): herramientas utilizadas para evaluar transporte de contaminantes y riesgo agregado por múltiples rutas de exposición, con énfasis en multimedia y modelado de destino ambiental.
- OpenTox (<https://opentox.net/>): plataformas abiertas y de uso regulatorio para la evaluación de riesgos de sustancias químicas conforme a REACH y otras directivas europeas. Dentro del ecosistema OpenTox, la plataforma Jaqpot proporciona la infraestructura para realizar evaluaciones de riesgo más refinadas y probabilísticas con el uso de modelos bayesianos e IATA (Enfoques Integrados de Prueba y Evaluación), facilitando la creación de flujos de trabajo donde la incertidumbre se propaga a lo largo del modelo.

Tabla 3. Herramientas y software para evaluaciones probabilísticas (nivel 2). Comparación entre las distintas herramientas mostrando las ventajas y limitaciones principales de cada una.

Herramienta	Ventajas principales	Limitaciones
@RISK (Palisade)	Integración directa con Excel, fácil de usar para no programadores. Amplia librería de distribuciones estadísticas. Muy utilizado en toxicología. Resultados visuales (histogramas, percentiles, curvas de riesgo).	Software de pago, licencias costosas. Menor flexibilidad para análisis personalizados. Dependencia del ecosistema Excel.
Crystal Ball (Oracle)	También integrado en Excel, interfaz intuitiva. Potente para análisis de sensibilidad y escenarios. Buen soporte corporativo en gestión de riesgos empresariales.	Coste elevado y licencias restrictivas. Menos orientado específicamente a toxicología/medio ambiente que @RISK. Comunidad científica más limitada.
R / Python (Simulaciones propias)	Gratuitos y de código abierto. Máxima flexibilidad para personalizar modelos probabilísticos y Monte Carlo. Amplia gama de librerías estadísticas y gráficas. Comunidad académica y científica muy activa.	Requiere conocimientos de programación. Curva de aprendizaje más larga. Menos “user friendly” que @RISK/Crystal Ball. Validación y documentación dependen del usuario.

Estas herramientas son especialmente valiosas cuando se requiere transparencia en el proceso de modelado, trazabilidad de los supuestos y posibilidad de auditoría por parte de autoridades regulatorias.

3.5. Implementación de simulaciones en estudios ambientales

La aplicación práctica de estas herramientas en estudios de sanidad ambiental implica varios pasos metodológicos esenciales:

- 1. Definición del problema y estructuración del modelo:** el primer paso es definir claramente la pregunta de evaluación: ¿Se superan los niveles de riesgo aceptables para determinada población expuesta a un contaminante? ¿Qué factores contribuyen más al riesgo? En base a esta pregunta, se estructura un modelo conceptual que incluye las fuentes de exposición, las vías de entrada, las poblaciones afectadas y los efectos esperados.
- 2. Recolección y parametrización de datos:** cada parámetro del modelo (concentración ambiental, frecuencia de exposición, peso corporal, tasa de ingestión, etc.) debe asociarse con una distribución de probabilidad basada en datos empíricos o literatura científica. Este paso es crucial para asegurar la validez del modelo probabilístico.
- 3. Programación del modelo en software:** mediante herramientas como @RISK o Crystal Ball, los parámetros se implementan en una hoja de cálculo que contiene la fórmula del modelo de exposición o riesgo como el cálculo de EDD y HQ. Cada celda se configura con su respectiva distribución, y se define el número de iteraciones, normalmente entre 5,000 y 50,000, según la complejidad del modelo.
- 4. Ejecución de simulaciones de Monte Carlo:** durante la simulación, el software selecciona aleatoriamente valores de entrada de cada distribución y calcula el resultado como, por ejemplo, el cociente de riesgo HQ. Esta operación se repite miles de veces, generando una distribución de resultados que representa la variabilidad e incertidumbre del sistema.
- 5. Análisis e interpretación de resultados:** la salida incluye histogramas, curvas de densidad, tablas de percentiles y gráficos de sensibilidad. A partir de esta información se pueden extraer conclusiones como:
 - Probabilidad de superar $HQ = 1$
 - Valor del percentil 95 del riesgo
 - Parámetros que más contribuyen al riesgo (análisis de sensibilidad)
 - Escenarios de mitigación más efectivos
- 6. Comunicación y documentación:** finalmente, los resultados deben ser comunicados de forma comprensible para responsables de políticas, gestores ambientales y otras partes interesadas. La representación visual de los resultados probabilísticos, acompañada de una explicación clara de los supuestos y limitaciones, es clave para una comunicación del riesgo efectiva.

3.5.1. Aplicaciones y ejemplos de metodologías avanzadas

A continuación, se presentan tres ejemplos que ilustran la aplicación de herramientas innovadoras en la evaluación de riesgos. A diferencia de los métodos tradicionales, estos ejemplos muestran cómo el uso de simulaciones y modelos de nueva generación permiten abordar la incertidumbre y mejorar la precisión en la toma de decisiones.

Evaluación de riesgos en alimentos:

El CNSA ha desarrollado e integrado un marco conceptual para la evaluación de riesgos ambientales (ERA) de pesticidas basado en la estructura espacial y distribución de uso del suelo, superando las limitaciones de las evaluaciones locales y aisladas por producto o cultivo. Este enfoque innovador permite considerar la complejidad de los ecosistemas reales al integrar la variabilidad espacial, las prácticas de gestión agrícola y los efectos combinados de múltiples plaguicidas bajo un entorno de múltiples exposiciones temporales. Al estructurarse en bloques flexibles, el modelo facilita la validación de predicciones teóricas mediante datos de monitoreo real, proporcionando una herramienta científica robusta que no solo mejora la precisión regulatoria, sino que también respalda la conservación de la biodiversidad y la formulación de estrategias agrícolas sostenibles a gran escala (Tarazona et al., 2024).

Evaluación de riesgos en aire:

El CNSA ha realizado un estudio sobre la presencia de pesticidas organoclorados en aire urbano interior y exterior en Madrid, identificando fuentes emisoras y estimando el impacto en la salud humana asociado. Esto permite a los gestores de salud pública diseñar medidas de intervención específicas para periodos críticos del año. Los resultados muestran como la exposición estacional agregada de los pesticidas de estudio, presentan niveles superiores a los niveles aceptables de exposición tanto en aire urbano interior como exterior (Galán-Madruga et al., 2023).

Evaluación de riesgos en agua:

El CNSA ha llevado a cabo un estudio retrospectivo sobre la presencia de contaminantes emergentes como diclofenaco y estrógenos sintéticos en el río Manzanares, evaluando su toxicidad mediante ensayos con embriones de pez cebra. Ofrece una visión holística que no solo detecta la presencia del contaminante, sino que valora su impacto biológico real en el ecosistema. Proporciona una base sólida para priorizar qué contaminantes emergentes requieren regulación urgente en cuencas urbanas. Es la metodología preferida para evaluar la salud de ecosistemas acuáticos impactados por vertidos urbanos donde la presencia de mezclas complejas hace que el análisis químico por sí solo sea insuficiente (García-Camero et al., 2021).

Evaluación probabilística de contaminantes en alimentos:

Un caso ejemplar del uso avanzado de metodologías probabilísticas en sanidad ambiental es el estudio de Stefano et al, 2025 (Stefano et al., 2025). En él, se cuestiona y mejora el método tradicional de medias individuales observadas (Observed Individual Means, OIM), comúnmente aplicado en evaluaciones de exposición dietética crónica. El estudio introduce dos mejoras estadísticas clave: el bootstrap no paramétrico estratificado y el uso de medias ponderadas de ocurrencia, para solventar las limitaciones estructurales del OIM convencional, especialmente para generar independencia e igual contribución de todas las muestras alimentarias. Como caso práctico, estas metodologías refinadas se aplicaron para estimar la exposición al contaminante 3-monocloropropano-1,2-diol en la población adulta italiana, proporcionando estimaciones más robustas y adaptadas a la estructura real de los datos. Este enfoque resulta especialmente valioso para autoridades de evaluación de riesgos alimentarios, al ofrecer estimaciones más precisas desde el punto de vista estadístico, mejorando así la gestión regulatoria y la priorización de contaminantes críticos.

El estudio realizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el marco de la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas (JMPR) (Crépet et al., 2021). Este trabajo se centró en la estimación de la exposición dietética aguda a residuos de 38 plaguicidas en ocho países, utilizando un enfoque probabilístico basado en datos reales de residuos y prácticas agrícolas. A diferencia de las evaluaciones tradicionales más conservadoras, esta metodología permite estimar de forma más realista el riesgo para los consumidores, considerando escenarios de uso intensivo (100% de aplicación de plaguicidas).

Evaluación integrada de exposición y efecto:

Otro estudio a destacar es el trabajo de van der Voet & Slob, 2007, que propone una metodología de evaluación de riesgos completamente probabilística (Van Der Voet and Slob, 2007). Este enfoque define el concepto de individual margin of exposure (IMoE), que surge de la combinación de dos distribuciones independientes: la de la exposición individual (IEXP) y la de la dosis crítica individual (ICED). A través de simulaciones de Monte Carlo, se estima la probabilidad de exposición crítica (PoCE), es decir, la fracción de la población para la cual la exposición supera el umbral que produciría un efecto adverso de magnitud definida (Critical Effect Size). El estudio utiliza como ejemplo la exposición dietética al plaguicida organofosforado acefato, ilustrando cómo esta metodología permite diferenciar entre variabilidad poblacional e incertidumbre en la estimación, con implicaciones significativas para la toma de decisiones sanitarias y regulatorias.

Aplicación a efectos no cancerígenos:

El estudio de Nielsen et al, 2023, representa un avance crucial en la evaluación del riesgo no cancerígeno desde una perspectiva probabilística (Nielsen et al., 2023). Utilizando como caso el percloroetileno (PCE), un disolvente industrial prioritario, los autores calculan la exposición crónica asociada con un 1/1.000 de riesgo para una reducción del 5% en la memoria visual, medida con la escala de reproducción de Wechsler. Los resultados muestran que este riesgo específico ocurre a una concentración inferior al valor guía vigente, evidenciando que los métodos tradicionales pueden subestimar el riesgo para ciertos subgrupos poblacionales. El valor añadido de este enfoque es su capacidad para relacionar niveles de exposición con magnitud de efecto y probabilidad, integrando la biología humana y los datos clínicos en el marco regulatorio de salud pública, particularmente para efectos no carcinogénicos.

La transición hacia metodologías probabilísticas en la evaluación de riesgos en sanidad ambiental refleja un avance significativo en la capacidad para proteger la salud pública, al proporcionar una visión más detallada y útil para la toma de decisiones en la gestión del riesgo ambiental. Estos ejemplos ilustran el cambio paradigmático hacia enfoques más sofisticados en la evaluación de riesgos ambientales, consolidando el valor de los modelos probabilísticos como herramientas esenciales para la sanidad ambiental del siglo XXI.

4. Metodologías retrospectivas de nivel 3

4.1. Definición y enfoques de evaluación retrospectiva

4.1.1. Diferencias con evaluaciones prospectivas

La evaluación retrospectiva del riesgo en salud humana y ambiental constituye un enfoque analítico basado en la revisión y análisis de datos históricos para identificar relaciones entre exposiciones a agentes ambientales y efectos adversos observados en poblaciones humanas o ecosistemas. A diferencia de las evaluaciones prospectivas, que proyectan posibles escenarios de exposición y riesgo a partir de estimaciones teóricas o modelos predictivos, las evaluaciones retrospectivas parten de la evidencia empírica de efectos adversos previamente registrada, a partir de datos de monitoreo, datos clínicos o registros epidemiológicos (Miller and Machado, 2010), revirtiendo la metodología de evaluación de riesgos para determinar la probabilidad de que dichos efectos estén ligados a la utilización/emisión de sustancias químicas concretas.

Una distinción clave entre ambos enfoques radica en la temporalidad y la base de datos utilizada. Mientras las evaluaciones prospectivas buscan estimar la probabilidad de que se produzcan efectos adversos, las evaluaciones retrospectivas se centran en identificar las causas ambientales de daños ya ocurridos (Kruisselbrink et al., 2023). Este enfoque resulta indispensable cuando se han detectado efectos adversos en salud, como un incremento de casos de cáncer o enfermedades respiratorias, y cuyo origen podría estar vinculado a exposiciones ambientales históricas.

Desde el punto de vista metodológico, las evaluaciones retrospectivas incluyen el uso de técnicas observacionales y analíticas que permiten reconstruir exposiciones pasadas, utilizando modelos de dispersión, análisis geoespacial y métodos epidemiológicos como estudios de cohorte retrospectiva o de casos y controles. En este sentido, son fundamentales para la identificación posterior al evento de factores de riesgo, la validación de hipótesis de exposición-efecto y la determinación de responsabilidades legales o regulatorias en casos de contaminación ambiental (Zhang et al., 2023).

Las metodologías de evaluación no son excluyentes, sino complementarias y adaptables dentro del marco integral de la evaluación del riesgo (tabla 4).

Tabla 4. Evaluaciones prospectivas vs. retrospectivas. Esquema visual de las similitudes y diferencias entre las evaluaciones prospectivas y las retrospectivas.

Evaluación Prospectiva	Evaluación Retrospectiva
Se centra en estimar los efectos potenciales de exposiciones estimadas o medidas.	Se centra en estimar si los efectos observados pueden relacionarse con exposiciones pasadas.
Utiliza modelos predictivos para proyectar riesgos.	Reconstruye exposiciones históricas ligadas a los efectos observados.
Herramienta clave en la prevención y regulación anticipada. También para proyectos de restauración.	Herramienta clave en la investigación de daños y vigilancia epidemiológica.
Responde a la pregunta: "¿Qué ocurrirá si la población se expone a X nivel de sustancia?"	Responde a la pregunta: "¿Qué relación existe entre el efecto observado en esta población y la exposición a la sustancia X en el pasado?"
Ejemplo: estimar el riesgo de una sustancia antes de comercializarla o de los niveles de exposición medidos en agua o alimentos.	Ejemplo: evaluar la relación entre el aumento de cáncer en una comunidad agrícola y la exposición a los plaguicidas utilizados en la zona.

4.1.2. Aplicaciones en salud pública

La evaluación retrospectiva tiene amplias aplicaciones en salud pública, especialmente en contextos donde se requiere establecer vínculos causales entre exposiciones ambientales y enfermedades. Para su correcta aplicación, es fundamental diferenciar la Evaluación del Riesgo (ER) retrospectiva (que busca reconstruir escenarios y dosis de exposiciones ya ocurridas para estimar riesgos pasados) de los estudios epidemiológicos (que analizan la distribución y frecuencia de enfermedades en poblaciones) y los estudios diagnósticos (centrados en identificar patologías en individuos), siendo dichas aproximaciones complementarias. Mientras la epidemiología aporta asociaciones estadísticas, la ER retrospectiva aporta la integración técnica de fuentes, rutas y dosis para caracterizar el riesgo. Asimismo, debe distinguirse de la ER prospectiva, la cual utiliza niveles de exposición actuales o proyectados para prevenir daños futuros. Esta modalidad evaluativa ha sido crucial en el estudio de múltiples crisis sanitarias con origen ambiental, como la contaminación por dioxinas en Seveso (Italia) (Needham, 1997), la exposición a plomo en Flint (EE.UU.) (Michaels, 2020), o la contaminación por mercurio en Minamata (Japón) (Fujiki and Tajima, 1992). A través del análisis retrospectivo, se pudieron identificar los agentes contaminantes responsables y su origen, estimar las dosis recibidas por las poblaciones afectadas y valorar la magnitud de los daños sanitarios y las posibles medidas de mitigación de dichos efectos.

Entre las aplicaciones más relevantes en salud pública se encuentran:

- Investigación de brotes epidemiológicos de origen ambiental: cuando ocurre un aumento anómalo en la incidencia de una enfermedad, como ciertos tipos de cáncer o malformaciones congénitas, se pueden utilizar evaluaciones retrospectivas para determinar si existe una relación con contaminantes presentes en agua, aire o alimentos. Esto es particularmente importante en entornos industriales o rurales donde se han utilizado pesticidas o disolventes tóxicos. Por ejemplo, el estudio de Broomandi et al, 2023, evalúa el riesgo cancerígeno y no cancerígeno asociado a elementos tóxicos presentes en partículas PM10 en 158 ciudades europeas entre 2013 y 2019 (Broomandi et al., 2023). El estudio identificó niveles inaceptables de arsénico, cadmio, níquel y plomo, especialmente en niños, subrayando la importancia de controlar las fuentes emisoras en contextos urbanos.
- Evaluación de impactos sanitarios de desastres ambientales: en eventos como vertidos tóxicos, incendios industriales o exposición prolongada a contaminantes atmosféricos por desastres naturales, la evaluación retrospectiva permite estimar la carga de enfermedad atribuible y orientar acciones correctivas y compensatorias. Por ejemplo, en el caso de la erupción volcánica de La Palma de 2021, se realizó un análisis retrospectivo de la exposición de los residentes a los gases liberados y los posibles efectos sobre la salud, generando principalmente alerta en afecciones respiratorias.
- Biomonitorio retrospectivo de exposición humana (desarrollado en Sección 4.3.): se pueden analizar muestras biológicas históricas (sangre, tejidos, cabello) conservadas en bancos de muestras para estimar la concentración corporal de contaminantes persistentes, como bifenilos policlorados (PCB), pesticidas organoclorados o metales pesados. Este enfoque ha permitido relacionar exposiciones pasadas con efectos como alteraciones neurocognitivas, reproductivas y metabólicas. Por ejemplo, en el CNSA se realiza la cuantificación de mercurio en la muestra biológica de cabello para la evaluación de exposición a dicho metal pesado en distintas poblaciones de interés (Esteban-López et al., 2022). Además, De Alba-Gonzalez et al, 2024, demuestran cómo la combinación de datos de biomonitorio con información sobre el consumo de alimentos puede ser crucial para refinar la estimación de la exposición a ciertos contaminantes, como los piretroides, y para evaluar el riesgo en poblaciones específicas, como los niños, incluso cuando los metabolitos urinarios pueden ser comunes a diferentes compuestos (de Alba-Gonzalez et al., 2023).

- Detección de disparidades ambientales y justicia sanitaria: las evaluaciones retrospectivas permiten identificar grupos sociales desproporcionadamente afectados por la exposición ambiental, revelando inequidades en la distribución del riesgo. Esto resulta esencial para políticas públicas orientadas a la equidad en salud y el principio de justicia ambiental (Rana et al., 2017).
- Apoyo a litigios ambientales y toma de decisiones políticas: las evaluaciones retrospectivas se emplean frecuentemente como pruebas periciales en juicios por daños ambientales y como base para reformas normativas. La documentación de exposiciones históricas y sus consecuencias facilita la implementación de medidas correctivas y sancionadoras, así como la actualización de valores guía y normativas de calidad ambiental (Russell and Gruber, 1987).

En todos estos contextos, la evaluación retrospectiva no solo aporta evidencia crítica sobre las relaciones entre ambiente y salud, sino que también permite reforzar los sistemas de vigilancia ambiental y epidemiológica, mejorar los registros de exposición y fortalecer los mecanismos de respuesta sanitaria.

4.2. Estudios epidemiológicos

4.2.1. Tipos de estudios: cohorte, caso-control y transversales

La epidemiología desempeña un papel central en la evaluación retrospectiva del riesgo, al proporcionar evidencia empírica sobre la relación entre la exposición a agentes ambientales y los efectos adversos en la salud humana. A través de distintos diseños epidemiológicos, es posible cuantificar el riesgo asociado a exposiciones ambientales pasadas, identificar poblaciones vulnerables y contribuir a la formulación de políticas de salud pública basadas en evidencia.

La evaluación de niveles de exposición se integra dentro del propio diseño epidemiológico, ya que la caracterización de la exposición es necesaria para poder establecer asociaciones entre la exposición ambiental y los efectos en salud. Por ejemplo, en un estudio de cohorte o de casos y controles, los niveles de exposición se miden o reconstruyen como parte del análisis, y estos datos son empleados directamente para calcular medidas de asociación epidemiológica.

Es fundamental partir de la base de que la toxicología y la epidemiología definen el riesgo desde perspectivas distintas pero complementarias. Mientras que la evaluación del riesgo tradicional, basada en la toxicología, cuantifica la probabilidad de daño mediante modelos de dosis-respuesta y escenarios de exposición teóricos, la epidemiología aporta la evidencia empírica de lo que realmente sucede en las poblaciones. La evaluación retrospectiva del riesgo alcanza su mayor robustez cuando integra ambas disciplinas, la epidemiología valida los modelos de riesgo con datos observacionales, y la evaluación de riesgos ayuda a interpretar los mecanismos de exposición que explican esos hallazgos. Los principales tipos de estudios utilizados en la evaluación retrospectiva del riesgo son:

a) Estudios de cohorte:

Los estudios de cohorte son diseños observacionales longitudinales que siguen a un grupo de individuos a lo largo del tiempo, clasificándolos en función de su nivel de exposición a un determinado agente ambiental. Estos estudios permiten observar la incidencia de enfermedades y calcular medidas de asociación como el riesgo relativo (RR) (Euser et al., 2009). Son el estándar de para evaluar efectos a largo plazo de contaminantes atmosféricos, como las partículas en suspensión (PM), permitiendo calcular el RR tras años de exposición.

Existen dos tipos de cohortes:

- Cohortes prospectivas, donde se sigue a los sujetos desde el presente hacia el futuro, y
- Cohortes retrospectivas, en las que se parte de datos históricos ya existentes para reconstruir la exposición y los desenlaces sanitarios.

En sanidad ambiental, los estudios de cohorte retrospectiva han sido clave para evaluar los efectos de exposiciones a largo plazo a contaminantes atmosféricos, agua contaminada o sustancias tóxicas ocupacionales. Ejemplos destacados incluyen las investigaciones sobre la exposición crónica al amianto, metales pesados o benceno y su relación con el desarrollo de cánceres ocupacionales.

b) Estudios de casos y controles:

Los estudios de casos y controles son estudios retrospectivos en los que se comparan individuos que han desarrollado una enfermedad específica (casos) con otros que no la presentan (controles), buscando identificar diferencias en la exposición ambiental previa. Este diseño es crucial para investigar contaminantes de preocupación emergente y larga persistencia, como las sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas (PFAS). Debido a su capacidad para analizar exposiciones históricas en relación con efectos específicos (como alteraciones endocrinas o ciertos cánceres), permiten calcular el Odds Ratio (OR) para identificar si la exposición previa fue significativamente mayor en el grupo de los enfermos. También han sido fundamentales para enfermedades raras o de larga latencia, como ciertos tipos de cáncer, malformaciones congénitas o enfermedades neurodegenerativas. Permiten calcular el odds ratio (OR) como medida de asociación. P.ej. estudio del cáncer de mama (Giovannucci et al., 1993).

En evaluación de riesgos ambientales, este diseño ha sido utilizado para investigar la relación entre el consumo de agua contaminada con nitratos y la aparición de metahemoglobinemia infantil, o entre la exposición prenatal a pesticidas y defectos del tubo neural (Felisbino et al., 2024).

c) Estudios transversales:

Los estudios transversales se basan en la recolección de datos de exposición y salud en un mismo momento temporal. Aunque su capacidad para establecer causalidad es limitada frente a los estudios de cohorte, son herramientas esenciales en el biomonitorio retrospectivo para detectar la prevalencia de contaminantes en la población y generar hipótesis iniciales sobre nuevos riesgos ambientales. Aunque no permiten establecer relaciones causales firmes, sí son útiles para detectar prevalencias de exposición y enfermedad, y para generar hipótesis.

En el contexto de la sanidad ambiental, estos estudios se utilizan frecuentemente en encuestas nacionales de salud y nutrición, que incluyen medidas ambientales y biomarcadores para identificar patrones de exposición en la población general o en subgrupos vulnerables, p.ej. caso de estudio de los efectos del tabaco en mujeres embarazadas españolas (Vila-Candel et al., 2020).

4.3. Estudios de biomonitorio

El biomonitorio humano es un componente esencial en la evaluación del riesgo, contando con el biomonitorio de exposición, que se asocia habitualmente con evaluaciones de riesgo prospectivas orientadas a la vigilancia y prevención de riesgos actuales, el biomonitorio de efectos y la reconstrucción de dosis mediante biomarcadores de exposición persistente son los que integran la evaluación retrospectiva del riesgo. Este proceso permite una estimación directa de la carga interna de contaminantes en el organismo, la cual resulta

de la absorción, distribución, metabolismo y excreción de sustancias químicas presentes en el ambiente. Estas sustancias pueden ingresar al cuerpo por inhalación, ingestión o contacto dérmico, y almacenarse en distintos tejidos, generando posibles efectos adversos para la salud.

La diferencia fundamental entre el enfoque epidemiológico y el biomonitorio radica en la escala y especificidad de sus indicadores. Mientras que la epidemiología suele emplear indicadores de salud más genéricos a nivel poblacional (como tasas de incidencia o prevalencia de enfermedades), el biomonitorio utiliza biomarcadores a nivel subindividual. Esta aproximación permite cuantificar la exposición interna o detectar cambios biológicos de forma mucho más concreta sirviendo en la evaluación de riesgos para modelar escenarios de exposición y establecer umbrales de referencia, incluso cuando no se cuenta con un diseño epidemiológico asociado.

A través del análisis de matrices biológicas como sangre, orina, saliva, cabello o leche materna, el biomonitorio ofrece información crítica sobre la exposición real de un individuo o población a contaminantes ambientales, ya que reflejan la exposición, el efecto biológico o la susceptibilidad individual ante un contaminante (Strimbu and Tavel, 2010). Además, con el desarrollo de nuevas técnicas analíticas, es posible utilizar matrices menos invasivas, lo que facilita su aplicación en estudios poblacionales. Este enfoque no solo complementa la información de modelos de exposición, sino que también permite evaluar tendencias temporales, la efectividad de regulaciones, y establecer vínculos entre la exposición química y los efectos sobre la salud humana (Esteban and Castaño, 2009).

En la evaluación de riesgos se distinguen tres tipos principales:

- Biomarcadores de exposición: indican la presencia de una sustancia química o su metabolito en el organismo. Ejemplos incluyen mercurio en cabello, plomo en sangre, cotinina en orina como marcador de exposición al humo de tabaco p.ej. estudio de niveles de mercurio en pelo realizado por el CNSA (Esteban-López et al., 2022).
- Biomarcadores de efecto: reflejan una respuesta biológica temprana, como el daño al ADN, el estrés oxidativo o alteraciones en enzimas hepáticas. Son útiles para identificar efectos subclínicos antes de que se manifieste la enfermedad (Nia et al., 2001).
- Biomarcadores de susceptibilidad: identifican características genéticas o bioquímicas que modifican la respuesta a la exposición, como variantes en genes de metabolismo (CYP, GST, NAT) que pueden influir en el riesgo de cáncer inducido por sustancias químicas (Au et al., 2001).

El uso de biomarcadores ha transformado la evaluación del riesgo ambiental al permitir:

- Detección precoz de exposiciones nocivas, incluso cuando las concentraciones ambientales ya no son detectables.
- Evaluación acumulativa de exposiciones múltiples, reflejando la suma de diferentes rutas y fuentes.
- Estudios en poblaciones vulnerables, como fetos, niños o ancianos, donde la medición directa es esencial para establecer umbrales de seguridad adecuados.

Ejemplos notables de biomonitorio en sanidad ambiental incluyen los programas nacionales como el NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) (<https://www.cdc.gov/nchs/nhanes/index.html>) en EE. UU., el Programa Europeo de Biomonitorización Humana (HBM4EU) (<https://www.hbm4eu.eu/>), o estudios de grupos de población definidos como el estudio de Biomonitorización En Adolescentes (BEA) (<https://cnsa.isciii.es/en/bea/presentacion>) que recopilan datos representativos sobre contaminantes como cadmio, ftalatos, bisfenol A, pesticidas y contaminantes orgánicos persistentes (COPs).

Estos datos no solo permiten realizar análisis retrospectivos del riesgo, sino que también alimentan modelos probabilísticos y sirven como base empírica para decisiones regulatorias. Así, el biomonitoreo complementa la epidemiología en salud humana y ambiental, constituyendo una herramienta clave para identificar exposiciones prioritarias, establecer estándares de referencia biológica y proteger la salud pública de forma más efectiva.

4.4. Uso de big data y modelado

4.4.1. Aplicación de inteligencia artificial y aprendizaje automático en análisis de riesgo

En el contexto de las metodologías de evaluación de riesgos de nivel 3, el uso de tecnologías emergentes como la inteligencia artificial (IA) y el aprendizaje automático o “machine learning” ha abierto una nueva era en la capacidad para identificar, modelar y predecir riesgos ambientales a partir de conjuntos de datos masivos, complejos y heterogéneos. Estas técnicas permiten descubrir patrones no evidentes en grandes volúmenes de datos históricos y actuales, integrando múltiples fuentes (biológicas, ambientales, sociales) y proporcionando herramientas robustas para la evaluación retrospectiva de riesgos en sanidad ambiental (Singh et al., 2024; Wittwehr et al., 2020).

El aprendizaje automático ofrece modelos predictivos y clasificatorios que pueden entrenarse con datos de exposición y desenlaces en salud para identificar asociaciones causales, variables predictoras clave, y segmentos de población en mayor riesgo. Algunos de los algoritmos más utilizados incluyen:

- Árboles de decisión y random forests: útiles para segmentar grandes bases de datos e identificar combinaciones de factores de exposición asociados a efectos adversos.
- Máquinas de soporte vectorial (SVM): ideales para problemas de clasificación binaria, como diferenciar entre zonas contaminadas y no contaminadas.
- Redes neuronales profundas (deep learning): especialmente valiosas para analizar datos no estructurados como imágenes satelitales, registros de sensores ambientales o textos clínicos (Paltrinieri et al., 2019).
- Modelos bayesianos: permiten actualizar la estimación del riesgo a medida que se incorpora nueva evidencia, integrando incertidumbre de manera explícita (Lin and Chou, 2022).

En sanidad ambiental, estas técnicas se han utilizado para:

- Predecir efectos adversos en salud a partir de exposiciones históricas: por ejemplo, mediante el análisis de cohortes expuestas a contaminantes atmosféricos durante décadas, combinando datos de calidad del aire con historias clínicas electrónicas.
- Clasificar zonas geográficas de riesgo: a partir de la integración de sensores remotos, registros de contaminación, demografía y datos socioeconómicos.
- Modelar interacciones entre múltiples contaminantes: superando las limitaciones de los modelos univariados tradicionales.

Uno de los grandes beneficios del uso de IA es su capacidad de adaptarse a sistemas dinámicos y multidimensionales, permitiendo generar modelos de riesgo altamente personalizados. No obstante, su uso requiere especial precaución respecto a la interpretabilidad de los modelos y a la calidad de los datos de entrada, ya que los resultados sólo serán tan confiables como los datos que los alimentan (Lary et al., 2015).

4.4.2. Bases de datos globales y su integración

La consolidación de bases de datos ambientales y de salud a escala global ha facilitado enormemente la implementación de análisis retrospectivos de riesgo mediante big data. Estas bases permiten superar las limitaciones de estudios locales y proporcionan una visión holística del impacto ambiental en la salud humana. Entre las más relevantes destacan:

- NHANES (EEUU): Encuesta nacional que combina datos biomédicos, ambientales y socioeconómicos de miles de individuos, incluyendo concentraciones de metales pesados, pesticidas, contaminantes orgánicos persistentes y biomarcadores de efecto.
- HBM4EU (Europa): Iniciativa de biomonitoreo humano que estandariza datos de exposición a contaminantes en distintos países europeos, con el fin de apoyar políticas públicas coordinadas.
- WHO Global Health Observatory (OMS) (<https://www.who.int/data/gho>): Plataforma que centraliza datos sobre calidad del aire, contaminación del agua, productos químicos y sus efectos en la salud pública a nivel mundial.
- The Human Exposome Project (<https://humanexposomeproject.com/>): Proyecto europeo que busca mapear el conjunto total de exposiciones a lo largo de la vida, integrando datos ambientales, genómicos, sociales y de comportamiento.
- USEtox (<https://usetox.org/>) y Exiobase (<https://www.exiobase.eu/>): Modelos y bases de datos para evaluar impactos ambientales de sustancias químicas y actividades industriales a través del ciclo de vida.

La integración de estos datos requiere metodologías avanzadas de armonización y minería de datos, dado que los formatos, escalas y unidades suelen ser heterogéneos. Para ello, se emplean técnicas como:

- ETL (Extract, Transform, Load): Para la conversión y carga automatizada de datos.
- Ontologías ambientales: Que permiten establecer equivalencias entre conceptos y variables en diferentes bases.
- Plataformas interoperables: Como OpenTox, que facilitan el uso de datos toxicológicos y exposición en modelos de riesgo estandarizados.

Gracias a estas herramientas, es posible construir modelos integrados de exposición y riesgo que consideren no solo factores químicos, sino también elementos del contexto social, económico y biológico. Por ejemplo, al analizar la relación entre exposición a contaminantes atmosféricos y enfermedades cardiovasculares, se pueden integrar datos sobre edad, nivel socioeconómico, genética, comportamiento, y condiciones médicas preexistentes (Weersink et al., 2018).

Además, la fusión de estas bases con datos espaciales (GIS) y temporales permite realizar análisis geoespaciales de riesgo, como los mapas de calor de exposición o los modelos espacio-temporales de dispersión de contaminantes, fundamentales para planificaciones urbanas saludables.

En conclusión, la incorporación de big data, inteligencia artificial y bases de datos globales en las metodologías de evaluación retrospectiva de riesgos de nivel 3 representa una revolución en el campo de la sanidad ambiental. Estas herramientas no sólo amplían las capacidades analíticas del evaluador de riesgos, sino que ofrecen un marco más dinámico, adaptativo y preciso para identificar, predecir y mitigar los efectos adversos de la exposición ambiental.

5. Metodologías de nueva generación

5.1. ¿Qué son las metodologías de nueva generación?

5.1.1 Introducción a la Evaluación de Riesgos de Nueva Generación (NGRA por sus siglas en inglés: Next Generation Risk Assessment)

Tradicionalmente, la identificación y evaluación de los riesgos toxicológicos de las sustancias químicas, farmacéuticas, cosméticas y agroquímicas, se ha basado en estudios con animales. Sin embargo, las consideraciones sobre el bienestar animal, las demandas sociales, las exigencias regulatorias y el interés de la industria por desarrollar productos seguros sin recurrir a nuevos ensayos con animales, han impulsado un cambio profundo en este enfoque. La Evaluación de Riesgos de Nueva Generación (NGRA, por sus siglas en inglés: *Next Generation Risk Assessment*) representa una evolución significativa en la forma en que se aborda la evaluación de riesgos de miles de compuestos para la salud humana y el medio ambiente.

La NGRA se definen como un enfoque dirigido por la exposición, fundamentado en hipótesis y orientado a prevenir daños, integrando enfoques innovadores como los métodos *in vitro*, *in chemico* e *in silico* para sustituir, en la medida de lo posible, los ensayos con animales (Dent et al., 2018). En este sentido, la NGRA no se fundamenta en sustituir pruebas animales existentes por una única metodología alternativa, sino que se caracteriza por ser un proceso iterativo y personalizado, no prescriptivo, cuyo propósito central es la prevención del daño humano. La prohibición de utilizar ensayos en animales para evaluar los productos cosméticos generó una atención particular en el desarrollo de NGRA para este sector. En este contexto, la Cooperación Internacional sobre Regulación de Cosméticos (ICCR de sus siglas en inglés)¹ reunió un grupo de trabajo compuesto por científicos de las autoridades reguladoras y la industria para acordar y esbozar los principios sobre cómo elaborar evaluaciones de seguridad integradas sin generar datos con animales (Dent et al., 2018, 2021). De este grupo de trabajo surgieron los nueve principios para la evaluación de riesgos de ingredientes cosméticos utilizando el enfoque de NGRA:

1. El objetivo principal será la seguridad humana: La evaluación debe centrarse en garantizar la seguridad del producto para los humanos, sin replicar pruebas en animales.
2. La evaluación estará guiada por la exposición: Se debe estimar la exposición humana desde el inicio para definir las necesidades de datos y guiar la generación de información adicional.
3. La evaluación se basará en hipótesis: Se deben formular hipótesis sobre los eventos clave que podrían llevar a un resultado adverso, utilizando toda la información disponible.
4. La evaluación estará diseñada para prevenir daños: Se deben distinguir entre efectos biológicos adaptativos y adversos, utilizando herramientas para evaluar el riesgo de manera proporcional.
5. Se realizará una revisión adecuada de toda la información existente: Es fundamental utilizar revisiones sistemáticas para identificar, seleccionar y evaluar críticamente los datos relevantes.
6. Se utilizará un enfoque escalonado e iterativo: Los recursos deben asignarse proporcionalmente al nivel de preocupación, refinando los datos hasta alcanzar la precisión necesaria para tomar decisiones.

¹ La Cooperación Internacional sobre Regulación de Cosméticos (ICCR) es un grupo internacional voluntario de autoridades reguladoras en materia de cosméticos de Brasil, Canadá, la Unión Europea, Japón y Estados Unidos.

7. Se emplearán métodos y estrategias robustos y relevantes: Los métodos deben ser confiables, reproducibles y adecuados para el propósito específico de la evaluación.
8. Las fuentes de incertidumbre deberán ser caracterizadas y documentadas: Es importante identificar y describir las incertidumbres para garantizar la transparencia en el proceso de toma de decisiones.
9. La lógica del enfoque deberá ser transparente y explícita: Toda la información, suposiciones, metodología y datos utilizados deben documentarse claramente para permitir la revisión independiente.

Estos principios descritos por (Dent et al., 2018) buscaban garantizar evaluaciones de seguridad basadas en datos humanos relevantes, sin el uso de pruebas en animales, promoviendo la innovación y la transparencia en la industria cosmética. Actualmente, organizaciones europeas como la Comisión Europea y proyectos como PARC, NAMWISE, SEURAT-1 y RISK-HUNT3R ya han desarrollado marcos metodológicos de evaluación de riesgo basados en estos principios de la NGRA (figura 7) (Comisión Europea, 2023; Pallocca et al., 2022).

	The assessment is...
OBJECTIVES	1. focused on safety
	2. exposure-led
	3. hypothesis-driven
	4. based on adversities (rather than “perturbations”)
	The assessment uses...
PROCEDURE	5. consideration of all existing info
	6. tiered and iterative approaches
	7. robust and relevant methods and strategies
	The assessment includes...
DOCUMENTATION	8. documentation and quantification of uncertainty
	9. documentation of all steps and the rationale for conclusions

Figura 7. Ejemplo de implementación de los principios de la NGRA en el proyecto Europeo RISK-HUNT3R (imagen tomada de Pallocca et al., 2022).

Y aunque en la actualidad algunos sectores aún dependen del uso de animales o están legalmente obligados a utilizarlos en determinadas evaluaciones, la comunidad científica adopta cada vez con mayor convicción el Principio de las 3R (reemplazo, reducción y refinamiento del uso de animales en la investigación). Esta transición responde a la necesidad de contar con métodos más éticos, eficientes y precisos en la evaluación de riesgos, impulsando el desarrollo de las conocidas como “Nuevas Aproximaciones Metodológicas” (NAMs por sus siglas en inglés: *New Approach Methodologies*), que permiten obtener información relevante de forma más rápida y exacta, reduciendo al mismo tiempo la dependencia de los ensayos con animales.

La tabla 5 muestra un resumen comparativo del enfoque y de los principales aspectos metodológicos que engloba la Evaluación de Riesgos clásica basada en la experimentación animal, frente al enfoque y los aspectos más relevantes que tiene en cuenta la Evaluación de Riesgos de Nueva Generación o NGRA.

Tabla 5. Comparación entre la Evaluación de Riesgo basada en los Métodos Tradicionales vs. la NGRA.

Aspecto	Métodos Tradicionales (Estudios Animales)	NGRA (Evaluación de Riesgos de Nueva Generación)
Enfoque	Basado principalmente en resultados de experimentación animal	Orientado por la exposición, dirigido por hipótesis, enfoque humano
Técnicas empleadas	Tests en animales: toxicidad aguda, crónica, carcinogenicidad, etc.	Integración de métodos <i>in vitro</i> , <i>in chemico</i> , <i>in silico</i> , <i>ómicas</i> , etc.
Relevancia para el humano	Datos extrapolados de animales a humanos, con incertidumbre	Diseñado para máxima relevancia humana y escenarios de exposición
Flexibilidad metodológica	Protocolos predefinidos, poco personalizables	Personalización según la exposición y la hipótesis de riesgo
Transparencia & Documentación	Protocolos estandarizados para los ensayos normativos	Guía de orientación y descripción del procedimiento variable
Fuentes de incertidumbre	Limitaciones debidas a la extrapolación y variabilidad animal	Incertidumbres debidas a la extrapolación a la situación <i>in vivo</i>
Ética y 3Rs	Alto uso de animales, en tensión con los principios éticos	Minimiza o elimina los ensayos en animales, responde a los 3Rs
Herramientas regulatorias	Bien aceptados históricamente por reguladores	Creciente aceptación, aún en desarrollo de directrices regulatorias
Agilidad de evaluación	Proceso largo, costoso y menos adaptativo	Evaluaciones más rápidas, adaptables según avance tecnológico
Ejemplo de punto de partida	NOAEL y LOAEL de ensayos animales	AC50 (actividad <i>in vitro</i>), dosis equivalente administrada (AED), BER

5.1.2. Definición de las Nuevas Aproximaciones Metodológicas (NAMs por sus siglas en inglés: New Approach Methodologies)

Las nuevas aproximaciones metodológicas (NAMs, por sus siglas en inglés: *New Approach Methodologies*) para evaluar los riesgos de las sustancias químicas constituyen el conjunto de métodos, herramientas y estrategias científicas desarrolladas para mejorar la evaluación y gestión de riesgos de sustancias químicas, productos farmacéuticos y cosméticos, con la clara intención de reducir o reemplazar los modelos animales de los ensayos tradicionales, por otros más relevantes para el ser humano. La consideración como NAMs no está totalmente consolidada; en general se incluyen métodos alternativos a la utilización de modelos animales, por lo que el acrónimo en inglés coincide con “non-animal methods”, aunque en sentido estricto no todos los métodos alternativos son nuevos, y además algunos autores incluyen como NAMs nuevas aproximaciones *in vivo*, como la integración de metodologías ómicas en estudios con animales. Nosotros utilizaremos el concepto generalmente utilizado en Europa, que excluye los ensayos *in vivo* con animales de experimentación. Las NAMs incluyen, por ejemplo, ensayos *in vitro* (cultivos celulares en 2D o sistemas 3D avanzados como organoides y “órganos-en-chip”), modelos *in silico* (QSAR, simulaciones PBK, inteligencia artificial), métodos *in chemico* (ensayos con reactivos químicos y biomoléculas) y tecnologías ómicas (transcriptómica, proteómica, metabolómica, etc.) entre otros (Bearth et al., 2025; Escher et al., 2022; Ltd et al., 2024; Sewell et al., 2024) (figura 8). Estas metodologías surgen como respuesta tanto a la necesidad ética de promover enfoques alternativos acordes con los principios de las 3Rs como al avance científico y tecnológico que

permite obtener información más relevante, ágil y específica para el ser humano (Bearth et al., 2025; Sewell et al., 2024).

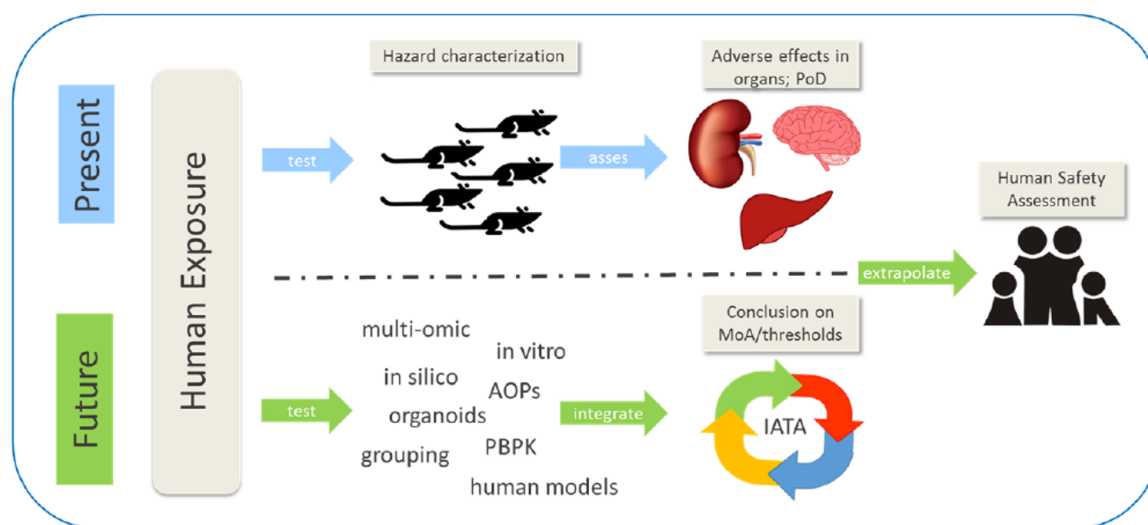


Figura 8. Presente y visión de futuro de la Evaluación de Riesgos mediante el empleo de las NAMs (imagen tomada de Escher et al., 2022).

El término NAMs comenzó a utilizarse de manera formal en la literatura y el ámbito regulatorio internacional a partir de la década de 2010, gracias al influyente informe de la National Academy of Sciences de EE.UU., *Toxicity Testing in the 21st Century: A Vision and a Strategy* (Krewski et al., 2010) que solicitaba una transformación en las pruebas de toxicidad, pasando de un sistema basado en estudios con modelos animales a uno basado en métodos *in vitro*, que pudiera evaluar los cambios en procesos biológicos utilizando células de origen humano (Dent et al., 2018; Krewski et al., 2020). En este sentido, se dio el primer paso para redirigir la toxicología tradicionalmente utilizada en el marco normativo, basada en estudios animales, hacia enfoques mecanicistas (esto significa entender el “cómo” y el “por qué” del efecto, no solo el “cuánto daño causa”) y computacionales, orientados a la biología humana, considerando los enormes avances de la toxicología experimental. Este documento planteó por primera vez la visión estratégica y conceptual de lo que serían las NAMs.

Durante los años siguientes, organismos internacionales empezaron a reconocer el potencial de estos métodos y acuñaron el concepto NAMs para englobar todas aquellas aproximaciones científicas capaces de aportar datos relevantes y confiables sin necesidad de recurrir mayoritariamente a animales. Este es el caso de la iniciativa internacional APCRA (Accelerating the Pace of Chemical Risk Assessment), que reúne a diferentes agencias gubernamentales y organismos reguladores y cuyo objetivo es modernizar y agilizar la evaluación del riesgo químico, promoviendo métodos científicos más avanzados y menos dependientes de ensayos en animales, como es el caso de las NAMs. Además, fomenta la colaboración entre autoridades regulatorias, el intercambio de conocimientos y el desarrollo de estudios de caso y talleres internacionales para mejorar la protección de la salud humana y el medio ambiente mediante evaluaciones químicas más eficientes, éticas y basadas en la ciencia más reciente. Entre las agencias y organismos que la componen se encuentran: la ECHA, la EFSA, la U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Health Canada, Food Standards Australia New Zealand (FSANZ), la Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA) de Japón y otras autoridades regulatorias de países como Canadá, Japón, Australia, Corea del Sur y Estados Unidos.

Entre los primeros documentos regulatorios que recogen de manera explícita este concepto destacan:

- Las sucesivas actualizaciones de la OECD *Guidance Document n° 34* (desde 2005) (OECD, 2005), que definen criterios de validación y aceptación normativa de métodos alternativos.
- Las guías y listas publicadas por la EPA a partir de 2018, donde se identifica y promociona el uso de NAMs para evaluación y reglamentación química (EPA, 2019, 2018).

En los últimos años, especialmente tras el año 2020, ha existido una aceleración significativa en el desarrollo, validación e integración de las NAMs, impulsada por la aparición de nuevas herramientas computacionales, la expansión de datos ómicos, la mejora de cultivos celulares y la aceptación regulatoria progresiva en Europa y Norteamérica. Tal es el caso que, actualmente, el uso de las NAMs se encuentra respaldado y promovido por organismos internacionales como la OCDE, la ECHA, la EMA y la EFSA, que han ido actualizando sus directrices y marcos regulatorios para allanar el camino hacia su adopción sistemática. Ejemplo de ello es que la EFSA otorgó al consorcio formado, principalmente, por el Fraunhofer Institute for Toxicology and Experimental Medicine (ITEM), la tarea de desarrollar una hoja de ruta titulada “*Development of a Roadmap for Action on New Approach Methodologies in Risk Assessment*” para la acción sobre NAMs en la evaluación de riesgos, identificando oportunidades, barreras y estrategias para su integración en los procesos regulatorios de seguridad alimentaria (Escher et al., 2022). O, por ejemplo, la hoja de ruta diseñada por la Agencia de Normas Alimentarias del Reino Unido (UK FSA) y titulada “*Paving the way for a UK Roadmap: Development, Endorsement and Regulatory Acceptance of New Approach Methodologies (NAMs) in Chemical Risk Assessment and Beyond*”, que reconoce la necesidad de apoyar e iniciar investigaciones que garanticen una mayor inclusión de las NAMs en la evaluación del riesgo químico (UK FSA, 2023). De este modo, las NAMs se han consolidado como el pilar fundamental de la mencionada NGRA, permitiendo una aproximación más ética, eficiente, transparente y alineada con los últimos avances científicos. En este marco, la Comisión Europea está preparando el “*Roadmap Towards Phasing Out Animal Testing for Chemical Safety Assessments*”, anunciado en la Comunicación C(2023)5041 como respuesta a la Iniciativa Ciudadana Europea “*Save cruelty-free cosmetics – Commit to a Europe without animal testing*”. Esta hoja de ruta servirá como plan estratégico para acelerar la sustitución, reducción y perfeccionamiento (principio de las 3Rs) de la experimentación animal en las evaluaciones de seguridad química, estableciendo hitos y acciones concretas a corto, medio y largo plazo que actúen como prerrequisitos para la transición hacia un sistema regulatorio libre de ensayos con animales. Su publicación está prevista, a más tardar, para el segundo trimestre de 2026 y contempla una fase de implementación prolongada, dada la necesidad de desarrollar y validar metodologías alternativas científicamente robustas. Todo ello contribuye de manera decisiva a la protección de la salud pública y el medio ambiente en el siglo XXI.

5.1.3. Rol de las NAMs en la NGRA

El rol de las NAMs en la NGRA es proporcionar una base científica sólida, moderna y multidimensional para la evaluación de riesgos. A diferencia de los métodos tradicionales, que dependen de la extrapolación de datos obtenidos en animales hacia humanos, las NAMs permiten caracterizar la toxicidad a nivel molecular, celular, tisular y sistémico directamente en modelos biológicos humanos o equivalentes. Esta transición representa un cambio conceptual hacia una toxicología predictiva y mecanicista, como se ha mencionado anteriormente, en la que los efectos adversos se comprenden en función de las rutas biológicas afectadas y no únicamente mediante la observación de síntomas en organismos animales (Krewski et al., 2020). En otras palabras, las NAMs constituyen las herramientas principales que utiliza la NGRA para:

- Descubrir cómo actúa una sustancia en el organismo, identificando los procesos biológicos que puede alterar.
- Predecir riesgos sin el uso de animales, mediante modelos y datos basados en sistemas humanos.
- Facilitar la priorización de sustancias (screening) y el agrupamiento químico, optimizando la selección y evaluación de compuestos.
- Fundamentar las decisiones regulatorias en información mecanicista.
- Reducir la incertidumbre y aumentar la confianza en los resultados al determinar si un producto es seguro para las personas.

Además, las NAMs contribuyen a mejorar la eficiencia y la ética en la evaluación de riesgos. No solo permiten reducir tiempos y el uso de animales, sino que también incrementan la calidad científica al generar datos más relevantes para la fisiología humana (figura 9). En este sentido, la EPA y la International Fragrance Association (IFRA) destacan que la adopción de NAMs impulsa una evaluación más transparente, reproducible y centrada en el ser humano, lo que fortalece la confianza pública y la aceptación regulatoria (IFRA, 2024; US EPA, 2023).

En resumen, las NAMs son la columna vertebral de la NGRA, ya que posibilitan una evaluación de riesgos más humana, precisa, ética y científicamente avanzada, orientada a la prevención y a la comprensión mecanicista de los efectos tóxicos sobre la salud y el medio ambiente.



Figura 9. Ventajas e inconvenientes de la toxicología tradicional y las NAMs (imagen tomada de Manful et al., 2023).

5.2. Tipos de Nuevas Aproximaciones Metodológicas

Las NAMs engloban una variedad de métodos científico-tecnológicos destinados a estudiar y predecir la seguridad de sustancias químicas sin recurrir a ensayos animales. A continuación, se presentan cinco grandes grupos de NAMs, siguiendo enfoques descritos y aplicados en documentos clave de agencias como EFSA, ECHA y la U.S.EPA.

5.2.1. NAMs *in vitro*

Las NAMs *in vitro* comprenden un conjunto diverso de métodos que utilizan células, tejidos, organoides y sistemas microfisiológicos (MPS por sus siglas en inglés: *Microphysiological Systems*), también conocidos como “órganos-en-chip” (“*organ-on-chip*” en inglés), para medir las respuestas biológicas a sustancias químicas en condiciones controladas. Estos métodos se focalizan en eventos moleculares y celulares clave (*key events* (KEs)) para la toxicidad humana (por ejemplo, activación de vías de señalización/receptores, estrés oxidativo, inflamación, muerte celular), proporcionando información relevante que permita reemplazar o complementar los ensayos en animales clásicos en la evaluación de riesgos (ICCVAM, 2024; OECD, 2018, 2025b; Petersen et al., 2023).

Ejemplos principales de NAMs *in vitro* (Escher et al., 2022; ICCVAM, 2024; OECD, 2025b, 2018):

- Cultivos celulares:
 - Líneas celulares mono-capa y co-cultivos. Las líneas celulares mono-capa (generalmente 2D) se caracterizan por ser cultivos celulares de una sola línea celular que crece adherida a una superficie plana (generalmente plástico tratado o vidrio). Los co-cultivos (2D o 3D) son sistemas en los que se cultivan dos o más tipos de células juntos, en contacto directo o indirecto, para imitar interacciones celulares reales que ocurren en un tejido u órgano. Ambos, son útiles para cribado de citotoxicidad, genotoxicidad y respuestas inflamatorias, entre otros. En el caso de la citotoxicidad se encuentran, por ejemplo, los ensayos de viabilidad celular como el MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio) y NRU (Neutral Red Uptake). Algunos de los ensayos tienen protocolos normalizados internacionalmente. Para genotoxicidad, se encuentran ensayos de toxicidad con líneas celulares como por ejemplo las hepáticas inmortalizadas HepaRg (HepG2), así como el ensayo Comet (OECD TG 489) y el test de micronúcleo (OECD TG 487) que evalúan daño al ADN y cromosómico, respectivamente.
 - Células primarias humanas. Las células primarias humanas son células directamente aisladas de un tejido u órgano humano y cultivadas *in vitro* sin haber sido inmortalizadas ni modificadas genéticamente. Debido a su origen, conservan muchas de las características fisiológicas, metabólicas y funcionales del tejido del que proceden, por lo que las convierten en modelos relevantes para estudiar respuestas celulares frente a exposiciones químicas. Sin embargo, presentan algunas limitaciones importantes, como una capacidad proliferativa limitada, la variabilidad interdonantes y una disponibilidad restringida dependiendo del tejido de origen.
 - Células madre pluripotentes inducidas (iPSC). Las iPSC, se obtienen a partir de células adultas (por ejemplo, fibroblastos de piel o células sanguíneas) que son reprogramadas genéticamente para adquirir un estado pluripotente similar al de las células madre embrionarias, lo que permite que recuperen la capacidad de autorrenovación indefinida y diferenciación hacia múltiples tipos celulares derivados de las tres capas germinales. Gracias a estas propiedades, las iPSC permiten generar diferentes tipos celulares humanos, lo que facilita el estudio de los procesos de diferenciación y de las respuestas específicas de los tejidos en modelos *in vitro* (Rosca et al., 2023). No obstante, las iPSC también presentan limitaciones como la variabilidad entre líneas celulares, posibles alteraciones genéticas o epigenéticas durante la reprogramación o el cultivo prolongado, y la maduración incompleta de algunos tipos celulares en comparación con los tejidos adultos.

- Ingeniería de tejidos/órganos
 - Tejidos reconstruidos y modelos 3D. Se trata de modelos de piel humana reconstruida (Reconstructed Human Epidermis, RHE), epitelio respiratorio o mucosa oral, ampliamente utilizados en ensayos validados de irritación y corrosión cutánea u ocular. Están normalizados por la OECD TG 431 (corrosión dérmica *in vitro*), TG 439 (irritación dérmica *in vitro*) y TG 492 (irritación o daño ocular grave *in vitro*), y constituyen ejemplos de métodos *in vitro* aceptados por autoridades internacionales, que ya ha reconocido estos métodos como alternativas válidas a ensayos en animales para evaluación de seguridad de ingredientes alimentarios.
 - Organoides. Son estructuras tridimensionales derivadas de células madre pluripotentes (por ejemplo, iPSC) o de células adultas que en condiciones de cultivo adecuadas pueden autoorganizarse y reproducir algunos aspectos de la arquitectura, composición celular y ciertas funciones de un órgano específico. Su complejidad intermedia entre sistemas *in vitro* simples y el organismo completo los convierte en una herramienta muy valiosa para estudios mecanísticos y de seguridad toxicológica. Entre los modelos más utilizados se encuentran los organoides hepáticos, que se utilizan para estudiar metabolismo, bioactivación y hepatotoxicidad, que pueden apoyar la extrapolación *in vitro–in vivo* mediante enfoques de IVIVE y modelos PBPK. Ver sección 5.2.2); los organoides intestinales, que se utilizan para evaluar absorción, permeabilidad y efectos sobre la barrera intestinal o microbiota; organoides cerebrales, que constituyen modelos emergentes para el estudio de la neurotoxicidad del desarrollo y procesos neurodegenerativos, así como para investigar los efectos de la exposición a compuestos neuroactivos (Coronel et al., 2026); y los organoides pulmonares y renales, útiles en toxicidad respiratoria y nefrotoxicidad, incluyendo respuestas inflamatorias y daño epitelial. No obstante, estos sistemas también presentan limitaciones. Entre ellas destacan la variabilidad entre organoides, la maduración incompleta de algunos tipos celulares, la ausencia de vascularización y de interacción con otros sistemas fisiológicos, así como la dificultad para reproducir exposiciones sistémicas complejas. Por ello, los organoides se consideran modelos intermedios entre cultivos celulares bidimensionales y modelos animales, con mayor relevancia fisiológica pero aún con limitaciones para representar la complejidad del organismo completo.
 - Sistemas microfisiológicos (MPS) / “órganos-en-chip” (“organ-on-chip”). Dispositivos basados en microfluidos que reproducen funciones de tejidos y órganos mediante flujos dinámicos y microambientes controlados. Permiten estudiar fenómenos de absorción, metabolismo, distribución y excreción (ADME) a pequeña escala, así como la interacción entre diferentes tipos celulares. Los sistemas MPS son clave para integrar respuestas multiorgánicas (toxicidad multiorgánica) y apoyar la extrapolación fisiológica. Los MPS, como el hígado en chip, el pulmón en chip o las unidades neurovasculares, ofrecen la posibilidad de evaluar parámetros complejos como la toxicidad por dosis repetidas, la permeabilidad de la barrera hematoencefálica o la neurotoxicidad del desarrollo.

Pero para que los datos procedentes de las NAMs *in vitro* sean útiles en el ámbito regulatorio, su diseño, control de calidad y evaluación deben cumplir unas determinadas prácticas estandarizadas (OECD, 2025b, 2018). Por ello, la OECD redactó en el año 2018 un documento sobre buenas prácticas en métodos *in vitro* titulado “Guidance Document on Good In Vitro Method Practices (GIVIMP)”. Este documento fue creado

para reducir la incertidumbre y aumentar la fiabilidad y robustez de los métodos *in vitro*, facilitando así que los resultados obtenidos sean aceptados por agencias regulatorias, contribuyendo además al reemplazo de métodos animales, en línea con los principios de las 3Rs.

El GIVIMP describía diez pilares de calidad fundamentales, entre los que se incluían:

1. Roles y responsabilidades: Definía quién hace qué en el desarrollo y uso del método.
2. Consideraciones de calidad: Aseguraba la confiabilidad y reproducibilidad mediante un sistema de aseguramiento (QA) y control de calidad (QC).
3. Instalaciones: Garantizaba las condiciones de laboratorio adecuadas para minimizar errores.
4. Aparatos, materiales y reactivos: Controlaba la calidad, calibración y trazabilidad de equipos y reactivos.
5. Sistemas de prueba: hacía referencia a los métodos *in vitro* en sí y mantenía la autenticidad, estabilidad y control de contaminación.
6. Ítems de prueba y controles: Gestionaba las sustancias a ensayar y los controles de referencia correctamente.
7. Procedimientos operativos estándar (SOPs): Documentaba paso a paso los procedimientos para asegurar consistencia.
8. Ejecución del método: Establecía el diseño experimental y los criterios de precisión y reproducibilidad.
9. Informe de resultados: Indicaba cómo reportar datos, interpretación e incertidumbres.
10. Almacenamiento y retención: Establecía las reglas para almacenar materiales, datos y registros de forma segura.

Con este documento, la OECD pretende mejorar la transparencia, reproducibilidad y trazabilidad de los resultados de los métodos *in vitro*; reducir las incertidumbres en las predicciones; proporcionar criterios de aceptación, diseño experimental, estándares de desempeño y directrices para la elaboración de procedimientos y documentación; así como fomentar la armonización internacional y la aceptación regulatoria de las NAMs *in vitro*.

5.2.2. NAMs *in silico*

Las NAMs *in silico* son un conjunto de herramientas computacionales y predictivas que utilizan algoritmos matemáticos y simulaciones por ordenador para modelar parámetros finales como la toxicocinética o el metabolismo, o para predecir efectos, y evaluar los posibles riesgos de las sustancias químicas (Myatt et al., 2018; Schmeisser et al., 2023). Las NAMs *in silico* abarcan una variedad de técnicas desde el análisis estructural de compuestos (como los modelos QSAR, estructura-actividad), simulaciones fisiológicas (como modelos PBK), hasta métodos avanzados de machine learning e inteligencia artificial capaces de integrar múltiples fuentes de datos. Actualmente, su aplicación es crucial en el desarrollo farmacéutico, la regulación química y la toxicología, facilitando el *pre-screening* o predicción temprana de toxicidad, optimización de compuestos y reducción del uso de ensayos animales.

Ejemplos principales de NAMs *in silico*:

- **QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships)**: son modelos que relacionan matemáticamente la estructura química de una molécula con la actividad biológica o con la toxicidad. Permiten estimar propiedades fisicoquímicas de las sustancias, así como propiedades toxicológicas, o efectos

sobre órganos a partir de descriptores moleculares, sin necesidad así de realizar ensayos *in vivo*. Son ampliamente utilizados para el *pre-screening* o cribado virtual, optimización de fármacos y para evaluación regulatoria de nuevos compuestos, debido a su rapidez y bajo coste comparado con pruebas experimentales (Myatt et al., 2018; OECD, 2007; Schmeisser et al., 2023). Ejemplos de plataformas de modelos QSAR son el QSAR Toolbox o el Toxtree, que son utilizados y reconocidas por la ECHA para completar datos de seguridad en expedientes REACH. Entre los años 2004 y 2007, la OCDE estableció cinco principios destinados a asegurar la validez científica y la aceptación normativa de los modelos QSAR: (1) un parámetro bien definido, (2) un algoritmo inequívoco, (3) un ámbito de aplicabilidad definido, (4) medidas adecuadas de bondad de ajuste, solidez y predictibilidad y (5) una interpretación mecanicista, cuando sea posible (OECD, 2024a, 2007). En línea con esto, la OECD ha publicado en 2024 el Marco de Evaluación de los modelos QSAR (“(Q) SAR Assessment Framework: Guidance for the regulatory assessment of (Quantitative) Structure Activity Relationship models and predictions”), que ofrece un marco sistemático y armonizado para la evaluación y el uso de modelos QSAR en las presentaciones reglamentarias (OECD, 2024a).

- Modelos PBP (Physiologically Based Pharmacokinetic), también conocidos como PBPK: son una representación matemática (basada en ecuaciones diferenciales ordinarias) de los procesos biológicos que tienen lugar en el organismo. Estos modelos dividen el organismo en compartimentos interconectados e incorporan parámetros anatómicos, fisiológicos y bioquímicos, con el fin de vincular cuantitativamente las exposiciones externas con los perfiles de concentración-tiempo de las sustancias en distintos tejidos y órganos (OECD, 2021b). Los modelos PBP van desde modelos simplificados y de alto rendimiento, a modelos más desarrollados y específicos. Ejemplo de modelos PBP son los modelos que permiten predecir la absorción, distribución, metabolismo y excreción (modelos ADME) de una sustancia química en seres humanos y otras especies animales para evaluar el destino final de la sustancia en el organismo (Bloomingdale et al., 2017; Ltd et al., 2024; OECD, 2021b; Schmeisser et al., 2023). Estos modelos se utilizan para estimaciones IVIVE, enfocadas en extrapolar los resultados obtenidos en modelos *in vitro* (cultivos celulares, sistemas en placa) a escenarios *in vivo*, utilizando herramientas matemáticas y computacionales para simular cómo los niveles de exposición y efecto observados *in vitro* se correlacionan con efectos reales dentro de organismos completos (Bloomingdale et al., 2017; OECD, 2021b; Schmeisser et al., 2023). Cuando en estos modelos, *in vitro-in vivo*, la extrapolación se realiza de forma cuantitativa, es lo que se conoce como modelos QVIVE (Moreau et al., 2024). Al igual que ocurre con los modelos QSAR, la OECD también publicó en 2021 un documento de orientación para los modelos PBP (“Guidance document on the characterisation, validation and reporting of Physiologically Based Kinetic (PBK) models for regulatory purposes”), que describe las mejores prácticas para su desarrollo, validación y para su documentación (OECD, 2021b). Este marco hace hincapié en la transparencia, la credibilidad de los modelos y la integración de datos *in vitro* e *in silico*. Además, proporciona casos prácticos de referencia que demuestran cómo se pueden aplicar estos modelos en la toxicología reglamentaria.
- Machine Learning y AI: son técnicas que potencian las NAMs al analizar grandes volúmenes de datos toxicológicos complejos, identificando patrones que escapan a análisis tradicionales. Estos métodos se aplican para construir modelos predictivos más precisos en QSAR y toxicocinética, detectar efectos adversos, clasificar riesgos y acelerar la identificación de sustancias seguras o peligrosas (Belfield et al., 2023). Además, la IA permite integrar datos heterogéneos (químicos, biológicos, toxicológicos) mejorando la toma de decisiones regulatorias y científicas. La EPA en su plataforma en línea CompTox Chemistry

Dashboard ya utiliza algoritmos de inteligencia artificial para analizar bases de datos toxicológicas masivas y generar predicciones. CompTox proporciona información integral sobre miles de sustancias químicas para apoyar la investigación en toxicología, evaluación de riesgos y regulación ambiental.

5.2.3. NAMs *in chemico*

Las NAMs *in chemico* evalúan la interacción directa de las sustancias químicas con componentes biológicos clave (proteínas, péptidos, ADN) sin usar células vivas. Son fundamentales para identificar el potencial de reacción molecular, también conocido como los eventos moleculares iniciadores (MIEs por sus siglas en inglés: *Molecular Initiating Events*), que conducen a las vías de resultados adversos (AOPs por sus siglas en inglés: *Adverse Outcome Pathways*. Ver sección 5.2.5). Las NAMs *in chemico* están diseñadas principalmente para proporcionar datos mecanísticos, que son esenciales para investigar y comprender el comportamiento químico, incluidos los procesos de toxicidad y transformación en los sistemas biológicos. Son especialmente eficaces en la evaluación de riesgos y en los procesos normativos para la determinación de efectos cuya causalidad empieza por reactividad química, como es el caso de la sensibilización o corrosividad (ICCVAM, 2024; Ltd et al., 2024; OECD, 2025a; Petersen et al., 2023).

Ejemplos principales de NAMs *in chemico*:

- DPPRA (Direct Peptide Reactivity Assay): es un ensayo que mide la modificación de péptidos sintéticos que contienen cisteína y lisina para predecir sensibilización cutánea. El método cuantifica la reactividad hacia péptidos modelo, proporcionando información sobre el evento molecular iniciador en el AOP de sensibilización cutánea. Este ensayo se encuentra estandarizado por la OECD en su guía TG 442C (OECD, 2025a).
- ADRA (Amino acid Derivative Reactivity Assay): también estandarizado por la OECD en la guía TG 442C, este ensayo utiliza derivados de aminoácidos para mejorar la detección de ciertos tipos de sensibilizantes cutáneos que pueden no ser detectados por el ensayo DPPRA (OECD, 2025a).
- kDPPRA (kinetic Direct Peptide Reactivity Assay): se trata de una variante cinética del ensayo DPPRA que permite discriminar entre subcategorías de sensibilizantes (1A vs 1B) según el Sistema Globalmente Armonizado de la ONU (OECD, 2025a).
- Ensayos High-Throughput Screening (HTS): que consisten en adaptar los principios del DPPRA o ADRA a placas multipocillo (habitualmente 96 o 384), empleando volúmenes reducidos (microlitros) y detección automatizada, lo que multiplica la capacidad de análisis/rendimiento y reduce los costes (ejemplos, método HTS-DPPRA, método ProtReact) (Ferreira et al., 2023; Schmeisser et al., 2023).
- Ensayos High-Throughput Imaging (HTI): que emplean técnicas de imágenes de fluorescencia o *label-free spectroscopy* (espectroscopía sin marcadores) para detectar cambios estructurales o formación de aductos en biomoléculas inmovilizadas (Marcelis et al., 2023; OECD, 2025a; Schmeisser et al., 2023). Y aunque tradicionalmente este tipo de ensayos han estado asociados a métodos *in vitro* celulares, los enfoques HTI comienzan a aplicarse en la evaluación *in chemico* combinada con sistemas *cell-free* o *cell-based hybrid*².

² *Cell-free*: ensayo en el cual se eliminan las células completas y se usan extractos celulares o componentes purificados (como ribosomas, enzimas, ADN, ARN) para ejecutar reacciones biológicas fuera de un entorno celular. *Cell-based hybrid*: sistema híbrido que combina las ventajas de utilizar componentes *cell-free*, dentro o junto a células vivas, o en estructuras que imitan células.

- Ensayos espectrofotométricos y colorimétricos (Spectro-DPRA): el ensayo Spectro-DPRA, desarrollado recientemente (Sin et al., 2025), sustituye la detección HPLC por un método espectrofotométrico directo midiendo la disminución de absorbancia de los péptidos (cisteína/ lisina) tras la reacción con la sustancia de ensayo. Esta aproximación simplifica drásticamente el procedimiento y permite su uso en laboratorios sin equipamiento cromatográfico avanzado.

Al igual que ocurre con las NAMs *in vitro* y con algunas NAMs *in silico*, para que los ensayos *in chemico* puedan ser aceptados en el ámbito regulatorio, es necesario que pasen por un proceso de validación exhaustivo que confirme su solidez científica, así como su fiabilidad y capacidad de reproducirse de forma consistente. Por ello, el Documento Guía n.º 34 de la OCDE (OECD, 2005) estableció las bases para la validación de nuevos métodos de ensayo, destacando la importancia de utilizar criterios basados en el rendimiento. De acuerdo con este documento, tanto los métodos novedosos como aquellos denominados “*me too*” (que buscan replicar el funcionamiento de un método ya reconocido) deben demostrar su equivalencia en tres aspectos clave: (1) los componentes fundamentales del ensayo (como los péptidos o los disolventes empleados), (2) el comportamiento frente a un conjunto definido de sustancias químicas de referencia, y (3) los parámetros cuantitativos que garanticen la precisión y la reproducibilidad del método. En este sentido, agencias regulatorias como la ECHA ya acepta DPRA y ADRA como parte de enfoques definidos para evaluación de sensibilización y corrosividad. Otras como la EPA incluye los métodos *in chemico* en su lista de NAMs aprobados para decisiones regulatorias bajo la ley federal TSCA³. Estos ensayos forman parte de estrategias integradas que pueden reemplazar completamente los ensayos en animales para ciertos endpoints de toxicidad.

5.2.4. Ómicas

Las tecnologías ómicas permiten caracterizar las respuestas moleculares y celulares inducidas por sustancias químicas, fármacos u otros agentes xenobióticos de manera sistémica y global (Canzler et al., 2020; Ltd et al., 2024; Sauer et al., 2017). Estas tecnologías tienen la capacidad de proporcionar una visión profunda de la bioquímica y la fisiología de la célula y de cualquier efecto perturbador de los xenobióticos. Permiten identificar biomarcadores y aportar evidencia mecanística para la elucidación de los modos de acción de la toxicidad (MoAs, por sus siglas en inglés: *Mode of Action*). Asimismo, contribuyen a la identificación y definición de los eventos moleculares iniciadores (MIEs, *Molecular Initiating Events*), así como de las secuencias de eventos clave (KEs, *Key Events*) que de ellos se derivan y que, en última instancia, conducen a las vías de resultados adversos (AOPs, *Adverse Outcome Pathways*; ver sección 5.2.5). Por ello, se utilizan ampliamente en la investigación toxicológica para comprender los mecanismos de toxicidad, allanando el camino hacia aplicaciones del ámbito regulatorio como: identificación de peligros, el análisis del modo de acción, agrupación de sustancias químicas para apoyar el *read-across* (ver sección 5.2.5) y caracterización de peligros mediante puntos de partida (PoD, *Point of Departure*) basados en datos ómicos (Harrill et al., 2021; Krewski et al., 2020; OECD, 2023; Sauer et al., 2017). En este sentido, la EFSA ha publicado guías específicas sobre el uso de datos ómicos en la evaluación de riesgo, estableciendo criterios para la interpretación de resultados y su integración en marcos regulatorios. Por su parte, la EPA, utiliza datos ómicos para apoyar la construcción de AOPs y validar biomarcadores de efecto.

³ TSCA (por sus siglas en inglés, *Toxic Substances Control Act*) es una ley federal de Estados Unidos, promulgada en 1976, que otorga a la EPA la autoridad para regular la fabricación, importación, uso y eliminación de sustancias químicas con el fin de proteger la salud humana y el medio ambiente.

Tipos principales de tecnologías ómicas (Dai and Shen, 2022; Harrill et al., 2021; Krewski et al., 2020; Ltd et al., 2024; OECD, 2023; Sauer et al., 2017):

- **Genómica:** es el estudio de la estructura, función, organización, variación y regulación del genoma completo de un organismo, incluyendo el análisis de la secuencia de ADN, la expresión génica, las interacciones entre genes y su relación con factores ambientales.
- **Transcriptómica:** utiliza microarrays⁴ y la secuenciación de ARN para analizar cambios en la expresión génica causados por exposición química. Por ejemplo, la identificación de alteraciones en la expresión de genes antioxidantes tras exposición a metales pesados. EFSA ha desarrollado marcos específicos para la interpretación de datos transcriptómicos en evaluación de riesgo alimentario.
- **Proteómica:** es el estudio de la expresión de proteínas en células y tejidos. Detecta cambios en la abundancia y modificación de proteínas usando espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida (LC-MS) y Western blot⁵. Permite identificar proteínas de inflamación aumentadas tras exposición a agentes irritantes, proporcionando información sobre mecanismos de acción.
- **Metabolómica:** analiza perfiles de metabolitos en células y tejidos para detectar cambios en rutas energéticas y metabólicas. Puede identificar sustancias que alteran la glicólisis o el ciclo de Krebs, indicando toxicidad metabólica.

Además de “las cuatro grandes ómicas”: genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica, que hemos mencionado anteriormente, las tecnologías ómicas también incluyen sus variantes como la epigenómica, la epitranscriptómica, la epiproteómica y la interactómica. En la categoría de la interactómica se incluyen: la interactómica ADN-ARN, la interactómica ARN-ARN, la interactómica ADN-proteína, la interactómica ARN-proteína, la interactómica proteína-proteína y la interactómica proteína-metabolito (Dai and Shen, 2022; Sauer et al., 2017).

Asimismo, están las llamadas “ómicas basadas en el conocimiento”, como la inmunómica, la microbiómica o la exposómica, entre otras, que se desarrollan para comprender un campo específico del conocimiento de manera sistemática (Dai and Shen, 2022; Ltd et al., 2024).

Por último, en los últimos años se ha desarrollado el término “multiómica”, que se basa en integrar dos o más de estas tecnologías ómicas, como la transcriptómica, la proteómica y la metabolómica, para proporcionar una visión sistémica más completa (Canzler et al., 2020; Ltd et al., 2024).

5.2.5. Herramientas integradoras: AOPs, IATA, WoE, Read-across

Las herramientas integradoras constituyen marcos conceptuales y metodológicos para combinar, ponderar e interpretar distintos tipos de datos generados por las NAMs que hemos visto en los apartados anteriores, apoyando así la toma de decisiones regulatorias científicamente fundamentadas.

Ejemplos principales de herramientas integradoras:

⁴ Microarrays: de acuerdo con la OECD 2023, los microarrays permiten analizar miles de genes simultáneamente mediante el etiquetado e hibridación de una muestra de ADN o ARN con sondas complementarias fijadas en una superficie sólida. Esta capacidad ha impulsado importantes avances en biología, como la identificación de genes diferencialmente expresados en tejidos sanos y enfermos, el estudio de respuestas a xenobióticos y toxicogenómica, y la caracterización de la regulación génica en distintas especies.

⁵ Western blot: es una técnica de biología molecular utilizada para detectar y cuantificar proteínas específicas en una muestra biológica.

- **AOPs (Adverse Outcome Pathways):** Describen secuencias causales de eventos biológicamente vinculados, desde un evento iniciador molecular (MIE, *Molecular Initiating Event*) a través de una secuencia de eventos clave (KEs, *Key Events*), hasta un resultado adverso (AO, *Adverse Outcome*) a nivel individual o poblacional, que es relevante para una decisión reglamentaria (figura 10) (OECD, 2017; Tollefsen et al., 2014; Villeneuve et al., 2014a).

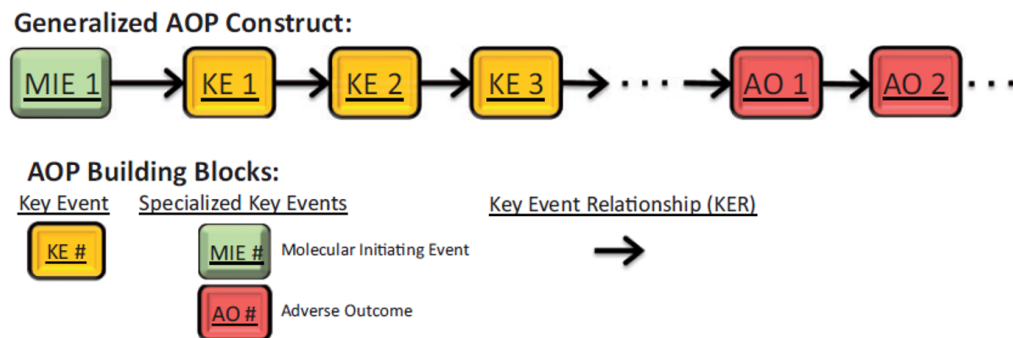


Figura 10. Esquema del proceso de un AOP (imagen tomada de Villeneuve et al., 2014a).

Un ejemplo de vías de efectos adversos sería el AOP de sensibilización cutánea validado por OECD en el año 2012 (figura 11) (OECD, 2014a), que conecta la unión covalente a proteínas (evento molecular iniciador o KE) con dermatitis alérgica (resultado adverso o AO), integrando datos generados por NAMs *in vitro* con los posibles efectos adversos *in vivo*.

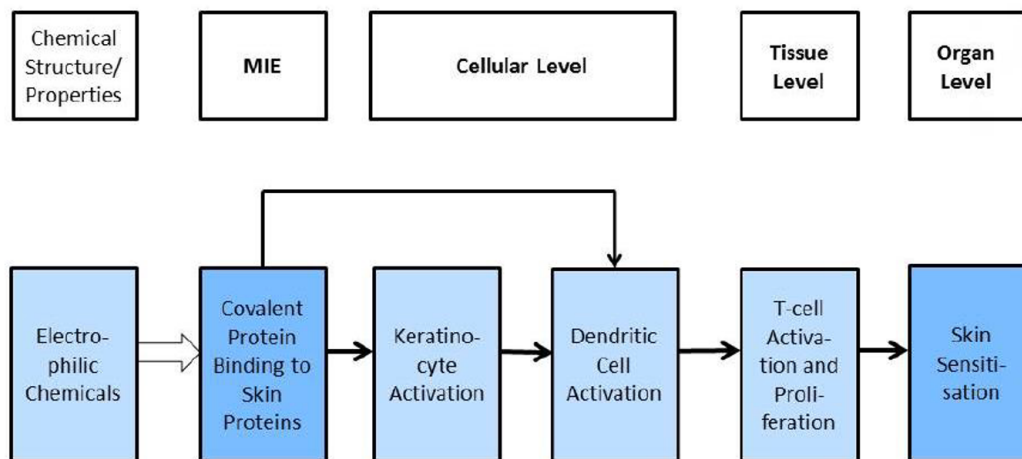


Figura 11. Ejemplo de AOP de sensibilización cutánea (imagen tomada de OECD, 2017).

Esta asociación de los resultados obtenidos a través de las NAMs con KEs específicos en AOPs bien definidos, respalda científicamente la extrapolación de datos *in vitro*, *in chemico* o *in silico* en la evaluación de riesgos para la salud humana y ambiental (Tollefsen et al., 2014). Tal es el caso que agencias reguladoras como la EFSA y aquellas que aplican el Reglamento de la UE sobre cosméticos (CE n.º 1223/2009), están haciendo referencia progresivamente a marcos basados en los AOPs para justificar las decisiones basadas en NAMs. Asimismo, la OECD cuenta con un programa de desarrollo de AOPs supervisado por el grupo Asesor sobre Ciencia Emergente en la Evaluación de Sustancias Químicas (ESCA por sus siglas en inglés: *Emerging Science in Chemicals Assessment*). Este grupo trabaja en colaboración con el Grupo de Coordinación AOP-KB y la Sociedad para el Avance de los AOP (SAAOP, *Society for the Advancement of AOPs*) para que el desarrollo de los AOPs se lleve

a cabo bajo unas normas básicas de calidad recogidas en su guía sobre el desarrollo y la evaluación de AOPs (*Guidance Document on Developing and Assessing Adverse Outcome Pathways*), entre las que se incluyen la reproducibilidad, la plausibilidad biológica y el respaldo empírico (OECD, 2021c, 2017). Además, la OECD lanzó en el año 2013 la llamada “AOP-Wiki” (<https://aopwiki.org/>), un repositorio de libre acceso a los AOPs disponibles que permite la contribución de contenidos mediante un proceso de “crowdsourcing”⁶ a escala internacional. No obstante, a pesar del notable aumento en el número de AOP disponibles, del mayor conocimiento general del marco de las AOPs y de la formación de las distintas partes interesadas, su aplicación práctica en los procesos de evaluación del riesgo sigue siendo limitada (Bajard et al., 2023).

- **Read-across (RAx) (y agrupamiento):** es una técnica utilizada para predecir información sobre los parámetros o ensayos de una sustancia química a partir de datos del mismo parámetro o ensayo de otra(s) sustancia(s) considerada(s) similar(es) según criterios científicos (OECD, 2014b; Rovida et al., 2020). Este enfoque permite extrapolar información de peligrosidad desde una sustancia fuente hacia una sustancia diana con datos limitados, basándose en el principio de que sustancias con similitud estructural presentan, previsiblemente, propiedades toxicológicas similares, lo que contribuye a reducir el número de sustancias ensayadas (ECHA, 2017; Ltd et al., 2024; OECD, 2014b). Es importante indicar que algunos autores incluyen esta técnica dentro de los NAMs *in silico*, en vez de como método de integración.

Existen dos enfoques principales de agrupación para la predicción de peligros: el *enfoque de análogos* y el *enfoque por categorías* (ECHA, 2017; EFSA Scientific Committee et al., 2025).

En el *enfoque de análogos* se selecciona una o pocas sustancias fuente estrechamente relacionadas con la sustancia diana, para las que existe un conjunto adecuado de datos toxicológicos para el endpoint de interés. La similitud se justifica principalmente por la estructura química (núcleo común, grupos funcionales y propiedades fisicoquímicas comparables) y, cuando es posible, por datos toxicológicos, toxicocinéticos o de modo de acción. A partir de esta similitud se extrapola la información crítica (por ejemplo, NOAEL o punto de partida, PoD), discutiendo de forma explícita las posibles fuentes de incertidumbre, como diferencias en metabolismo, reactividad o impurezas. Este enfoque resulta especialmente adecuado cuando se dispone de uno o pocos análogos de alta calidad y la pregunta reguladora está claramente delimitada (Ball, 2016; Berggren et al., 2015; ECHA, 2017; EFSA Scientific Committee et al., 2025; Ltd et al., 2024; Patlewicz et al., 2024).

En el *enfoque por categorías*, se agrupa un conjunto de sustancias que comparten un principio de agrupación definido (estructural, mecanístico o basado en patrones consistentes de efectos), utilizando las relaciones internas del grupo para interpolar o extrapolar datos entre sus miembros. Aunque la similitud estructural suele ser el punto de partida, las buenas prácticas recomiendan reforzarla con evidencia biológica o mecanística (modo de acción, vía de resultado adverso, perfil metabólico o datos ómicos). Una vez definida la categoría, pueden aplicarse distintos tipos de read-across: de un miembro rico en datos al resto, de varios miembros hacia un intervalo de valores esperado (tendencias dentro de la serie) o mediante análisis de tendencias cuantitativas similares a los QSAR (ver sección 5.2.2). Este enfoque es especialmente útil para familias químicas y para identificar patrones consistentes de toxicidad o ausencia de efectos a lo largo del grupo (Ball, 2016; Berggren et al., 2015; ECHA, 2017; EFSA Scientific Committee et al., 2025; Zhu et al., 2016).

⁶ Crowdsourcing: es un modelo colaborativo mediante el cual una organización recopila conocimientos, datos o soluciones a través de una convocatoria abierta a una comunidad amplia, habitualmente utilizando plataformas digitales.

En el marco del reglamento REACH, el read-across está reconocido como una herramienta oficial para cubrir requisitos de información sin realizar nuevos ensayos, siempre que la justificación científica sea adecuada. No obstante, análisis de expedientes de registro muestran que estos enfoques no siempre son aceptados, principalmente cuando no se describe de forma suficiente la base de similitud o la incertidumbre asociada a la predicción (Ball, 2016; Patlewicz et al., 2024; Roe et al., 2025). Con el fin de mejorar la coherencia y transparencia de las evaluaciones, la ECHA desarrolló (ECHA, 2017), que proporciona un esquema para revisar la calidad de los casos de read-across en distintos escenarios y define criterios clave de aceptabilidad, como la adecuada justificación científica, la documentación del razonamiento, la integración de las NAMs (*in vitro* e *in silico*) y la caracterización de la incertidumbre en función del contexto regulador (Ball, 2016; ECHA, 2017; Patlewicz et al., 2024).

En esta línea, guías como GRAP (Ball et al., 2016) y las estrategias de read-across que incorporan nuevos tipos de datos, incluidos datos ómicos y los modelos computacionales (*in silico*), buscan reforzar la solidez científica de estos enfoques y aumentar su aceptación por las autoridades competentes bajo REACH y otros marcos regulatorios.

- **Weight of Evidence (WoE o “peso de la evidencia”):** es un enfoque estructurado para integrar de manera coherente toda la información disponible sobre una sustancia química antes de tomar una decisión sobre su peligro o riesgo. En lugar de basarse en un único estudio considerado “clave”, el WoE agrupa y valora distintos tipos de datos (ensayos experimentales, estudios en humanos, modelos *in silico* u otras NAMs, datos de monitorización, etc.) con el objetivo de obtener una conclusión global y justificada sobre la sustancia (OECD, 2019b).

La guía de la OCDE sobre WoE indica que el primer paso es definir con precisión el problema y la pregunta regulatoria: por ejemplo, si se pretende decidir una clasificación de peligro, derivar un valor de referencia o justificar la ausencia de un ensayo adicional. A partir de esa formulación, se realiza una búsqueda sistemática de la evidencia relevante, documentando los criterios utilizados para seleccionar o excluir estudios, con el fin de reducir sesgos y asegurar que no se omiten datos relevantes. Posteriormente, cada estudio se evalúa en términos de calidad (validez del diseño, fiabilidad del método, claridad en la presentación de resultados) y de relevancia para la pregunta planteada (especie, vía de exposición, duración, parámetros medidos) (OECD, 2019b; SETAC, 2018)

Un aspecto básico del WoE es que la contribución de cada línea de evidencia no es uniforme, sino que depende de su calidad y pertinencia. La ponderación de la evidencia se basa en criterios explícitos: los estudios robustos y directamente relevantes tienen mayor peso en la conclusión, mientras que los estudios con limitaciones metodológicas o relevancia indirecta se consideran, pero con menor influencia. Además, se analiza la coherencia entre las distintas líneas de evidencia (por ejemplo, concordancia entre resultados *in vivo*, *in vitro* y datos mecanísticos), así como la consistencia de los efectos observados entre estudios y condiciones experimentales (Comisión Europea, 2025; OECD, 2019b; SETAC, 2018).

La gestión de la incertidumbre es otro elemento clave del enfoque WoE. La guía de la OCDE y otros documentos europeos recomiendan identificar qué fuentes de incertidumbre son más relevantes (p. ej., escasez de datos en determinados extremos de la dosis, discrepancias entre estudios, extrapolaciones entre especies) y describir cómo se han tenido en cuenta en la conclusión integrada. Incluso cuando no se utilizan métodos cuantitativos de análisis de incertidumbre, se espera una

caracterización cualitativa y estructurada que permita entender el grado de confianza en la evaluación (Comisión Europea, 2025; OECD, 2019b).

Finalmente, el WoE exige una documentación transparente de todo el proceso: la formulación del problema, la búsqueda y selección de estudios, la evaluación de calidad y relevancia, la integración de las líneas de evidencia y la caracterización de la incertidumbre. Esta transparencia facilita que las autoridades, los operadores económicos y otros interesados puedan seguir el razonamiento, reproducirlo si es necesario y valorar la solidez de la decisión. En la evaluación de riesgos químicos, el WoE se considera un componente esencial de las aproximaciones integradas (IATA), ya que proporciona un marco claro para combinar datos tradicionales y las NAMs que hemos descrito anteriormente, aumentando la consistencia y la aceptabilidad reguladora de las conclusiones (Hardy et al., 2017a; OECD, 2019b).

- IATA (Integrated Approaches to Testing and Assessment): son marcos estructurados que se utilizan para evaluar los peligros y riesgos de las sustancias químicas, integrando de forma ordenada diferentes tipos de información para responder a una pregunta regulatoria concreta (por ejemplo, si una sustancia debe clasificarse como irritante ocular o si es segura en determinadas condiciones de uso). Según la OCDE, un IATA combina datos fisicoquímicos, resultados de ensayos *in vitro*, modelos computacionales (como QSAR), información de sustancias similares (agrupación y read-across), datos *in vivo* ya existentes y, cuando se dispone de ellos, datos en humanos, con el objetivo de alcanzar un nivel de certeza adecuado para la decisión que se va a tomar (OECD, 2014b). La “Guidance Document for the Use of Adverse Outcome Pathways in Developing Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA)” de la OECD plantea que los Adverse Outcome Pathways (AOPs) sirven como base mecánica para elegir y organizar los métodos, relacionando efectos observados a nivel molecular o celular con efectos adversos relevantes para la salud o el medio ambiente. En la práctica, esto significa que un IATA no es un único ensayo, sino un proceso paso a paso: se define primero el problema y la pregunta regulatoria, se revisa qué información existe, se identifican las incertidumbres importantes y solo entonces se decide si hay que generar datos nuevos, priorizando siempre las NAMs frente a estudios con animales (OECD, 2024b, 2020a, 2014b; Tollefsen et al., 2014). La “Guidance Document on Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) for Serious Eye Damage and Eye Irritation, Third Edition” de la OECD es un ejemplo claro de cómo se aplica este enfoque a un tipo de peligro concreto, en este caso el daño y la irritación ocular, en el contexto de la clasificación y el etiquetado según el Sistema Globalmente Armonizado (UN GHS)⁷. Esta guía propone trabajar en tres grandes etapas: primero, recopilar de manera sistemática toda la información disponible sobre la sustancia (propiedades, datos existentes, modelos *in silico*, resultados de ensayos *in vitro*, datos de sustancias análogas); segundo, evaluar la evidencia en conjunto mediante un enfoque de peso de la evidencia, valorando la calidad, relevancia y coherencia de cada fuente; y tercero, solo si siguen existiendo incertidumbres críticas, planificar nuevos ensayos, empezando por métodos alternativos validados (NAMs) y dejando los estudios *in vivo* como última opción. Cada tipo de información (un ensayo concreto, un modelo QSAR, un estudio previo) se describe con su ámbito de aplicación, sus límites y su rendimiento, lo que ayuda a que las autoridades de distintos países puedan aplicar el IATA de forma consistente y a que el proceso resulte más claro y trazable para otros profesionales (OECD, 2024c).

⁷ Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA o GHS en inglés): es un estándar internacional de la ONU que normaliza la identificación de peligros (físicos, salud, ambiente) mediante etiquetas y fichas de seguridad uniformes. Su objetivo es mejorar la seguridad en el manejo, transporte y uso de productos químicos a nivel mundial.

Los estudios de caso de la OCDE son fundamentales para mostrar cómo funciona un IATA en situaciones reales de evaluación de riesgo. El “Report on Considerations from Case Studies on Integrated Approaches for Testing and Assessment (IATA)” resume las lecciones aprendidas de numerosos casos revisados, e identifica puntos clave como la importancia de documentar bien el razonamiento, explicar cómo se combinan las distintas líneas de evidencia y justificar por qué el nivel de incertidumbre residual se considera aceptable (OECD, 2022). Entre estos ejemplos destaca el “Case Study on use of an Integrated Approach to Testing and Assessment (IATA) and New Approach Methods to Inform a Theoretical Read-Across for Dermal Exposure to Propylparaben from Cosmetics”, donde se integran datos toxicológicos existentes sobre propilparabeno⁸ y sustancias relacionadas, información sobre absorción cutánea, ensayos *in vitro* y modelos de exposición y toxicocinética para respaldar un ejercicio de read-across teórico en el contexto de la exposición a cosméticos (OECD, 2020b). Este caso ilustra que, aplicando un IATA bien justificado y apoyado en las NAMs y en marcos mecanísticos como los AOPs, es posible cubrir lagunas de información y tomar decisiones de seguridad sin necesidad de realizar nuevos estudios en animales, en línea con el avance general de la evaluación del riesgo hacia enfoques más integrados, científicos y acordes con los principios de las 3Rs.

En definitiva, estas herramientas o enfoques integradores son fundamentales para la implementación práctica de las NAMs en contextos regulatorios, ya que su uso permite justificar científicamente la sustitución de ensayos en animales por las NAMs manteniendo estándares de protección de la salud pública.

5.3. Nuevas Aproximaciones Metodológicas y marco regulatorio

5.3.1. El papel de las NAMs en el marco regulatorio

En Europa, las NAMs se han convertido en un pilar emergente de la evaluación regulatoria, impulsadas tanto por la necesidad de mejorar la relevancia biológica de los ensayos como por el compromiso político y social de reducir la utilización de animales (principio de las 3Rs). En el apartado anterior hemos visto que las NAMs abarcan desde ensayos *in vitro* avanzados, modelos computacionales (*in silico*), modelos *in chemico*, tecnologías ómicas o por ejemplo estrategias de read-across y marcos integrados de evaluación, y su expansión refleja un cambio en la forma de entender el riesgo químico, alimentario y farmacéutico. Este movimiento está alineado con la evolución científica hacia evaluaciones más mecanísticas, basadas en vías como los Adverse Outcome Pathways (AOPs), que han demostrado ser un puente eficaz entre la evidencia molecular y los efectos adversos regulatoriamente relevantes (Kleinstreuer et al., 2016).

Las agencias europeas han reconocido explícitamente este cambio. La ECHA promueve de forma activa el uso de NAMs en el marco del Reglamento REACH, especialmente para evitar ensayos animales innecesarios y estructurar decisiones basadas en enfoques integrados (ECHA, 2017, 2014; Schmeisser et al., 2023). Por su parte, la EFSA, ha desarrollado guías y documentos para incorporar Read-Across, AOPs e IATA en la evaluación del riesgo alimentario, subrayando la importancia de la transparencia y la trazabilidad de la evidencia (EFSA Scientific Committee et al., 2025; Escher et al., 2022). Además, la EMA también ha establecido marcos para tratar de facilitar la aceptación regulatoria de métodos que no empleen el uso de animales siempre que se demuestre su relevancia y fiabilidad (EMA, 2025; EMA, 2023; EMA, 2018, 2016).

⁸ El propilparabeno (o propil-4-hidroxibenzoato, CAS 94-13-3) es un conservante sintético utilizado en cosméticos, fármacos y alimentos (E216) para prevenir hongos y bacterias. Se presenta como un polvo cristalino blanco, inodoro y soluble en alcohol. Está regulado en la UE con un máximo de 0.19% en cosméticos.

Estas iniciativas reflejan un esfuerzo coordinado para armonizar la transición hacia métodos más modernos y éticamente responsables, complementado por los informes y actividades desarrolladas por el Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para Alternativas a la Experimentación con Animales (EURL-ECVAM) del Centro Común de Investigación (JRC) de la Comisión Europea, que documentan el avance y madurez de los métodos alternativos (JRC, 2025). Además, este proceso ha adquirido una dimensión estratégica adicional con la publicación por parte de la Comisión Europea del ya mencionado “*Roadmap Towards Phasing Out Animal Testing for Chemical Safety Assessments*”, que establece una estrategia estructurada y progresiva para sustituir los ensayos con animales en la evaluación de la seguridad química. En este sentido, todo el marco normativo de la Unión Europea se verá necesariamente afectado y adaptado hacia una ciencia regulatoria basada en NAMs y evidencias no animales.

5.3.2. Cosméticos

La legislación europea de cosméticos constituye uno de los marcos regulatorios donde las NAMs han adquirido mayor relevancia. Pionera en este ámbito, la legislación europea de cosméticos introdujo con el Reglamento (CE) 1223/2009 la prohibición completa de la experimentación animal para ingredientes cosméticos y del uso de datos obtenidos mediante ensayos con animales para demostrar la seguridad de productos comercializados en la Unión Europea. Esta prohibición, implementada por fases y plenamente aplicable desde el año 2013, estableció un punto de inflexión que obligó a la industria y a la comunidad científica a desarrollar alternativas fiables basadas en métodos *in vitro*, modelos computacionales (*in silico*) y enfoques integrados (Hartung, 2008).

El impacto de esta prohibición ha sido profundo, dado que los ingredientes cosméticos deben seguir cumpliendo requisitos estrictos de seguridad, las NAMs se convirtieron en la principal vía para generar evidencia toxicológica. Esto incluye ensayos validados por EURL-ECVAM, como los métodos alternativos para irritación y corrosión cutánea o para fototoxicidad, que fueron progresivamente adoptados por la OCDE en forma de Test Guidelines, consolidando su aceptación regulatoria (Adler et al., 2011; OECD, 2026). Asimismo, el desarrollo de baterías de métodos para sensibilización cutánea basadas en la comprensión mecanística de las vías moleculares (AOPs) ha permitido sustituir ensayos *in vivo*, como por ejemplo el ensayo LLNA⁹, en línea con las recomendaciones de la comunidad científica (OECD, 2021c, 2014a).

Además, la industria cosmética ha avanzado hacia sistemas de evaluación de seguridad basados en enfoques integrados de evaluación IATA, modelos de exposición refinados y análisis de peso de evidencia WoE (OECD, 2020b, 2019b). Estas estrategias buscan sustituir enfoques tradicionales por combinaciones coherentes de NAMs. Podemos observar avances significativos para valorar efectos locales, mientras que, para parámetros complejos como toxicidad sistémica o toxicidad reproductiva, aún no existen alternativas reales. La literatura científica destaca que el progreso en estos campos depende de integrar modelos basados en la fisiología, herramientas ómicas y enfoques cuantitativos de riesgo que permitan generar puntos de partida sin recurrir a animales (Krewski et al., 2020).

De forma general, el sector cosmético europeo ha demostrado ser un motor de innovación en NAMs y NGRA precisamente porque la legislación establece un mandato claro: la evidencia debe obtenerse sin ensayos animales. Esta presión regulatoria ha favorecido el desarrollo, validación y adopción internacional

⁹ LLNA: De sus siglas en inglés Local Lymph Node Assay (Ensayo del Nódulo Linfático Local), es un ensayo toxicológico que se realiza en ratones y que mide si una sustancia puede provocar alergia en la piel (sensibilización). Fue durante muchos años el método de referencia para regulaciones internacionales.

de métodos alternativos y ha estimulado la estandarización necesaria para su aceptación global. Y aunque persisten limitaciones para ciertos efectos toxicológicos, la evolución científica y regulatoria indica que las NAMs seguirán siendo la base de la evaluación de seguridad de cosméticos en Europa y un referente para otros sectores, que veremos a continuación.

5.3.3. Industria química

En la industria química, las NAMs han adquirido un papel estratégico como respuesta a la creciente demanda de evaluaciones de seguridad más eficientes, éticas y predictivas. Bajo el marco regulatorio europeo, especialmente bajo el Reglamento REACH (Reglamento CE 1907/2006), la generación de datos toxicológicos sigue siendo obligatoria para garantizar la protección de la salud humana y del medio ambiente. Aunque el Reglamento REACH no establece una prohibición explícita de ensayos con animales, sí incorpora el principio de que deben evitarse cuando existan alternativas adecuadas, lo que ha impulsado el desarrollo y la integración de NAMs en la práctica regulatoria (ECHA, 2017).

La industria química ha incorporado métodos alternativos a la experimentación animal en varios niveles del proceso de evaluación, empezando por estrategias de data sharing, read-across y grouping, que permiten inferir propiedades toxicológicas de sustancias basadas en análogos estructurales o funcionales, reduciendo la necesidad de ensayos adicionales. Este enfoque ha sido ampliamente desarrollado por la ECHA, que ha publicado guías y marcos de evaluación para apoyar su uso regulatorio y mejorar la transparencia y reproducibilidad del método (Ball, 2016; ECHA, 2017). Estudios recientes han demostrado que, cuando se aplican adecuadamente, las estrategias de read-across pueden ser tan predictivas como ensayos *in vivo*, especialmente para endpoints como toxicidad sistémica repetida o toxicocinética (Berggren et al., 2015).

Junto a estas estrategias basadas en datos existentes, la industria está adoptando el uso de las NAMs experimentales como ensayos *in vitro* validados, modelos *in chemico* y aproximaciones no experimentales, incluidas los modelos *in silico* basados en QSAR. Tal es el caso que, en el Anexo XI del Reglamento REACH, se nombra explícitamente el uso de QSAR válidos, si éstos cumplen los cinco principios de validación fijados por la OCDE (ver sección 5.2.2). Estos métodos forman parte de enfoques integrados de evaluación IATA, recomendados por la OCDE para endpoints como irritación cutánea, mutagenicidad o sensibilización (OECD, 2026). De forma particular, el uso de modelos mecanísticos apoyados en AOPs ha permitido que las NAMs sean interpretables y más aceptables para decisiones regulatorias, al conectar los resultados moleculares con respuestas adversas relevantes (Villeneuve et al., 2014a, 2014b).

El interés por las NAMs también responde a las limitaciones de los métodos tradicionales. La industria química produce sustancias con estructuras diversas y potenciales modos de acción complejos que no siempre se representan bien en ensayos animales convencionales. Por ello, enfoques multianalíticos que integran datos de biología de sistemas, métodos ómicos y modelos farmacocinéticos basados en la fisiología (PBPK) están siendo incorporados para estimar puntos de partida tóxicos y mejorar la extrapolación entre concentraciones *in vitro* e *in vivo* (Krewski et al., 2020). Estos avances están alineados con los movimientos internacionales hacia la NGRA que vimos al inicio de este tema, una nueva evaluación de riesgos más predictiva y mecanística (Krewski et al., 2020).

A pesar de que el uso de las NAMs en el sector químico es más reciente y menos consolidado que en el sector cosmético, su papel es cada vez más importante. La presión regulatoria para reducir ensayos animales,

junto con las necesidades de gestionar grandes volúmenes de sustancias y acelerar la innovación, ha hecho que las NAMs se conviertan en herramientas clave para empresas que buscan evaluaciones más rápidas, rentables y basadas en mecanismos. Si bien todavía existen limitaciones para ciertos endpoints complejos (por ejemplo, toxicidad reproductiva o neurotoxicidad del desarrollo), la evolución regulatoria y científica apunta a una progresiva ampliación de su aceptación y a un creciente papel de los enfoques integrados como base para decisiones robustas y reproducibles.

5.3.4. Industria farmacéutica

En la industria farmacéutica, las NAMs están transformando progresivamente el proceso de investigación y desarrollo (I+D), especialmente en las fases tempranas de descubrimiento y evaluación de seguridad. A diferencia de los sectores anteriores, la regulación farmacéutica sigue requiriendo ensayos en animales para la autorización de ensayos clínicos o el registro final de medicamentos. Sin embargo, la EMA y la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de los EEUU – US Food and Drug Administration) han promovido de forma explícita la integración de NAMs siempre que estas aporten información relevante y científicamente válida (EMA, 2025a; Zushin et al., 2023). Tanto es así que la Hoja de Ruta de la FDA de abril de 2025 para reducir ensayos en animales promueve el uso de las NAMs (organoides, sistemas microfisiológicos, modelos PBPK *in silico*, etc.) destacando evaluaciones de riesgo humano “más rápidas y precisas” (FDA, 2025).

En el caso de la industria farmacéutica, las NAMs desempeñan un papel clave en la identificación temprana de riesgos y en la priorización de candidatos, reduciendo el número de compuestos que avanzan a estudios animales o clínicos con perfiles desfavorables. Modelos *in vitro* de mayor complejidad biológica, como organoides, microfisiología (“organ-on-chip”) y ensayos basados en células humanas primarias, han permitido aproximar mejor la fisiología humana y detectar toxicidades predictivas que a menudo no se detectan en modelos animales tradicionales (Marx et al., 2020). Esto es especialmente relevante para toxicidades idiosincrásicas (reacciones tóxicas inesperadas o poco comunes), cardiotoxicidad y hepatotoxicidad, donde las limitaciones predictivas del animal han sido ampliamente documentadas.

Las herramientas o modelos *in silico*, incluyendo modelos de predicción basados en QSAR, redes neuronales y modelos farmacocinéticos basados en la fisiología (PBPK), también se han convertido en componentes esenciales dentro de estrategias integradas de evaluación de riesgo. Estas herramientas permiten estimar exposiciones humanas, predecir interacciones metabólicas y contextualizar datos *in vitro* en escenarios clínicos, reforzando la interpretación de señales tempranas de toxicidad (Jones and Rowland-Yeo, 2013; Paini et al., 2019; Zhuang and Lu, 2016).

Uno de los marcos más influyentes para la aceptación de las NAMs en el ámbito farmacéutico es el concepto de MPS (Microphysiological Systems), que ha sido objeto de múltiples iniciativas regulatorias y consorcios internacionales. En este sentido, tanto la FDA como la EMA han participado en proyectos colaborativos para evaluar su reproducibilidad, estandarización y aplicabilidad en decisiones regulatorias, reconociendo su potencial para mejorar predicciones de eficacia y seguridad humanas (EMA, 2025a; Marx et al., 2020).

A nivel regulatorio, aunque los ensayos *in vivo* siguen siendo obligatorios para el dossier de autorización, la aceptación de las NAMs como fuentes complementarias de evidencia está aumentando significativamente. Las guías recientes de la EMA destacan el uso de las NAMs para caracterizar mecanismos de toxicidad, reducir la necesidad de estudios adicionales en animales o justificar decisiones basadas

en peso de evidencia WoE en áreas como genotoxicidad, inmunotoxicidad y toxicidad reproductiva (EMA, 2025a, 2025b). Del mismo modo, la FDA Modernization Act 2.0 (2022) abrió explícitamente la puerta al uso de métodos no animales para estudios preclínicos, marcando un avance histórico hacia la sustitución progresiva del animal cuando existan alternativas científicamente robustas (FDA, 2025; Zushin et al., 2023)

En conjunto, las NAMs están redefiniendo la manera en que la industria farmacéutica comprende la seguridad y eficacia de nuevos compuestos. Y aunque aún no sustituyen totalmente los estudios animales, su papel como herramientas predictivas, mecanísticas y human-relevant se está consolidando rápidamente. En este sentido, todo indica que las NAMs serán un componente central del futuro de la evaluación farmacéutica.

5.3.5. Productos fitosanitarios y biocidas

La evaluación de riesgos de productos fitosanitarios y biocidas en Europa se rige por los Reglamentos (CE) 1107/2009 y 528/2012, respectivamente, que establecen requisitos estrictos para garantizar la protección de la salud humana, animal y ambiental. En este caso, gran parte de los datos de seguridad provienen de ensayos con animales, incluyendo estudios de toxicidad aguda, crónica, reproductiva y ecotoxicológica. Y, aunque la creciente presión ética y regulatoria, junto con la necesidad de optimizar recursos, ha promovido el inicio de la integración de las NAMs en estos sectores, rara vez sustituyen completamente los ensayos obligatorios (ECHA, 2025; Stucki et al., 2022; Villeneuve et al., 2014a, 2014b).

Pese a todo esto, en el contexto de productos fitosanitarios, se está haciendo un esfuerzo para intentar cubrir con las NAMs las evaluaciones de neurotoxicidad, incluida la del desarrollo, mediante enfoques integrados como baterías de ensayo, como IATA y modelos basados en AOPs que permiten comprender la relación entre mecanismos moleculares y efectos adversos regulatoriamente relevantes. Asimismo, los modelos *in silico* se utilizan para predicción de toxicidad aguda y mutagenicidad de metabolitos e impurezas (OECD, 2026; Villeneuve et al., 2014a, 2014b). Estos métodos se utilizan principalmente para priorizar sustancias, justificar read-across, o reducir el número de ensayos con animales necesarios en la evaluación de riesgos, complementando la evidencia tradicional sin comprometer la seguridad (Rovida et al., 2020). Aun cuando los ensayos *in vivo* se siguen considerando esenciales para la evaluación de los principios activos, los NAMs pueden proporcionar suficiente evidencia para la identificación y evaluación de los metabolitos relevantes (EFSA 2016).

En el ámbito de los biocidas, la utilización de las NAMs también se ha incrementado, especialmente para endpoints como irritación cutánea, corrosión ocular y sensibilización, que cuentan con métodos *in vitro* validados por EURL-ECVAM y adoptados por la OCDE. La ECHA y la EFSA recomiendan la aplicación de estrategias integradas de evaluación para reducir la dependencia de ensayos animales, y se están desarrollando guías que describen cómo documentar y justificar la evidencia obtenida mediante las NAMs (Stucki et al., 2022).

Sin embargo, el uso de las NAMs en productos fitosanitarios y biocidas presenta desafíos específicos. Algunos efectos crónicos, reproductivos o de toxicidad para el desarrollo todavía no pueden evaluarse completamente sin modelos animales, lo que limita la sustitución completa de los ensayos con éstos. Además, la extrapolación a organismos no humanos (fauna acuática y terrestre) requiere enfoques complementarios, incluyendo modelos ecotoxicológicos basados en fisiología y bioquímica de especies clave (Krewski et al., 2020). No obstante, la tendencia regulatoria y científica es clara: la combinación de las NAMs con datos

existentes, estrategias IATA y modelos AOPs permitiría mejorar la predicción de las evaluaciones, reducir la incertidumbre y minimizar la experimentación animal en consonancia con la política europea de las 3Rs.

En conjunto, las NAMs están consolidándose como nuevas herramientas para la evaluación de pesticidas y biocidas. Si bien la rigidez legislativa en este campo hace que las NAMs todavía no reemplacen todos los estudios tradicionales realizados con animales. A pesar de ello, su integración en estos procesos regulatorios permitiría priorizar riesgos, optimizar recursos, y avanzar hacia una evaluación más mecanística y ética de los efectos sobre la salud y el medio ambiente.

5.4. Aplicación de las Nuevas Aproximaciones Metodológicas

5.4.1. Proyectos internacionales que emplean las NAMs

En este epígrafe se van a abordar, brevemente, los proyectos europeos PARC, NAMWISE, SEURAT-1 y el Clúster ASPIS (que engloba los proyectos ONTOX, PrecisionTox y RISK-HUNT3R), como iniciativas clave en la transición hacia evaluaciones de riesgos químicos de nueva generación (NGRA), que utilizan las NAMs como base de su metodología. A continuación, se describe el papel de cada uno en este ámbito:

PARC

El proyecto PARC (European Partnership for the Assessment of Risks from Chemicals) tiene como objetivo impulsar la investigación e innovación en evaluación de riesgos de sustancias químicas, promover la cooperación europea y mejorar los procesos regulatorios mediante el uso de NAMs. Además, trata de facilitar la transición hacia evaluaciones de riesgos de próxima generación (NGRA) que protejan la salud humana y el medio ambiente, alineándose con la ambición de la UE de un entorno libre de tóxicos. PARC, que se inició en el año 2023 y estará activo hasta el año 2029, colabora estrechamente con proyectos como ONTOX, PrecisionTox y RISK-HUNT3R, y agrupa múltiples subproyectos y establece redes de laboratorios para avanzar en este enfoque. <https://www.eu-parc.eu/>

NAMWISE

NAMWISE (NAMs Within Integrated Safety & Efficacy evaluation of chemicals and pharmaceuticals) es un proyecto financiado por Horizonte Europa iniciado en diciembre de 2024 y vigente hasta mayo de 2027. Su objetivo es facilitar la adopción de NAMs en la evaluación integrada de la seguridad y eficacia de productos químicos y farmacéuticos, promoviendo alternativas sin experimentación animal. NAMWISE involucra a reguladores, empresas e investigadores y trabaja en aspectos regulatorios, percepción social, comunicación científica y mejora de la cooperación tecnológica en Europa. <https://namwise.eu/>

SEURAT-1

SEURAT-1 (Safety Evaluation Ultimately Replacing Animal Testing) fue la primera gran iniciativa europea financiada por la UE para desarrollar alternativas a la experimentación animal, especialmente para la predicción de toxicidad por dosis repetida. Lanzado en 2011, agrupó seis grandes subproyectos y un proyecto de coordinación, abordando toxicidad sistémica mediante modelos *in vitro*, enfoques *in silico*, y análisis de datos integrados. Aunque inicialmente impulsado por la industria cosmética, sus resultados son relevantes para sectores farmacéuticos, REACH y otros. Garantizó recursos y metodologías para avanzar en la toxicología libre de animales y proporcionó una base para proyectos posteriores como RISK-HUNT3R. <https://toxbank.net/about/seurat-1>

ASPIS Cluster

ASPIS Cluster (Animal-free Safety assessment of chemicals: Project cluster for Implementation of novel Strategies) es un clúster de investigación financiado por Horizon 2020 cuyo objetivo es acelerar la transición hacia una evaluación de riesgos químicos libre de experimentación animal. El clúster integra tres grandes proyectos —ONTOX Project, PrecisionTox Project y RISK-HUNT3R Project— que desarrollan metodologías innovadoras basadas en NAMs, combinando datos experimentales *in vitro*, modelado computacional y conocimiento mecanístico para mejorar la predicción de la toxicidad y apoyar la toma de decisiones regulatorias en la seguridad química. <https://aspis-cluster.eu/>

ONTOX

ONTOX (Ontology-driven and artificial intelligence-based repeated dose toxicity testing of chemicals for next generation risk assessment) forma parte del clúster ASPIS Cluster y está financiado por Horizon 2020 (2021–2026). Su objetivo es desarrollar un sistema de evaluación de toxicidad de dosis repetidas basado en ontologías y modelos de inteligencia artificial. El proyecto integra datos experimentales, conocimiento mecanístico y modelización computacional para identificar rutas biológicas clave asociadas a efectos tóxicos. Esto permite predecir resultados adversos mediante enfoques NAMs, facilitando evaluaciones de riesgo más rápidas, human-relevant y sin uso de animales dentro de los marcos regulatorios europeos. <https://ontox-project.eu/>

PrecisionTox

PrecisionTox (Precision Toxicology for Chemical Safety Assessment) también forma parte del clúster ASPIS Cluster y está financiado por Horizon 2020 (2021–2026). Su objetivo es desarrollar un enfoque de toxicología de precisión basado en principios evolutivos para mejorar la predicción de la toxicidad química. El proyecto combina estudios comparativos en múltiples especies, genómica funcional, modelos celulares y análisis computacional para identificar mecanismos conservados de toxicidad. Este enfoque permite extrapolar resultados entre organismos y mejorar la predicción de efectos en humanos, contribuyendo al desarrollo de evaluaciones de riesgo más robustas y libres de experimentación animal mediante el uso integrado de NAMs. <https://precisiontox.org/>

RISK-HUNT3R

RISK-HUNT3R (RISK assessment of chemicals integrating Human centric Next generation Testing strategies promoting the 3Rs) es parte del clúster ASPIS y está financiado por Horizon 2020 (2021–2026). Su meta es establecer un marco modular para la evaluación de riesgos de productos químicos libre de animales (NGRA) combinando escenarios de exposición humana, pruebas *in vitro* y modelado computacional. Está diseñado para ser plenamente human-relevante, escalable y capaz de cubrir tanto toxicocinética como toxicodinámica gracias a la integración de NAMs, involucrando a reguladores desde el inicio. <https://www.risk-hunt3r.eu/>

Estos proyectos representan esfuerzos significativos para avanzar hacia evaluaciones de riesgos químicos más éticas y eficaces, utilizando metodologías que eliminan la necesidad de pruebas con animales. Su colaboración y desarrollo continuo son esenciales para lograr una transición exitosa hacia evaluaciones de riesgos más sostenibles y humanas.

5.4.2. Ejemplos reales

En la literatura científica nos podemos encontrar con un número creciente de estudios que aplican NGRA para evaluar los riesgos de diferentes tipos de sustancias químicas. A continuación, se presentan tres ejemplos concretos publicados por nuestro grupo que demuestran la versatilidad de estas aproximaciones conceptuales, los dos primeros enmarcados en las líneas habituales del desarrollo actual NGRA.

El primero, estudio realizado por Fernández-Agudo y Tarazona (2025), propone una evaluación de riesgos por exposición combinada a piretroides en alimentos mediante NAMs, integrando modelos toxicocinéticos y bioactividad *in vitro*. Este enfoque ha permitido refinar la evaluación de seguridad sin recurrir a la experimentación animal intensiva, proporcionando márgenes de exposición (MoE) mucho más realistas y ajustados a la biología humana. Esta metodología es ideal cuando se dispone de datos limitados de toxicidad *in vivo* o cuando se busca una evaluación de riesgos más refinada para sustancias sin necesidad de recurrir al uso de ensayos en animales (Fernández-Agudo and Tarazona, 2025) .

El segundo realizado en colaboración entre diferentes grupos del ISCIII estudia el efecto de nanoplásticos sobre el tiroides. Parte de un estudio de transcriptómica, e integra mediante IATA otros parámetros de toxicidad celular *in vitro*, estableciendo los eventos iniciales de una AOP, y proponiendo curvas dosis respuesta y puntos de partida para diferentes eventos basados en los niveles intracelulares de nanoplásticos (Iglesias-Hernandez et al., 2025).

El tercero, estudio realizado por Fernández-Martín y Tarazona (2025), da un paso más, y explora la aplicación de NGRA para evaluar los riesgos a poblaciones vulnerables debido a otros problemas de salud, una propuesta innovadora de nuestro grupo de investigación, por lo que le dedicaremos una atención especial (Fernández-Martín and Tarazona, 2025).

Evaluación de riesgos de nueva generación (NGRA) para abordar la vulnerabilidad relacionada con enfermedades: una prueba de concepto para el filtro solar octocrileno.

El estudio realizado por Fernández-Martín y Tarazona (2025) es un ejemplo real y práctico de la aplicación de la evaluación de riesgos de nueva generación (NGRA) y de las nuevas aproximaciones metodológicas sin uso de animales (NAMs). A través de un caso concreto, este trabajo muestra cómo están evolucionando las evaluaciones de riesgo para adaptarse mejor a la diversidad real de las personas. Tradicionalmente, la seguridad de las sustancias químicas presentes en productos de uso cotidiano, como los cosméticos, se ha evaluado pensando en una persona “promedio” y sana. Sin embargo, en la vida real no todas las personas son iguales y existen situaciones en las que algunas pueden ser más sensibles o vulnerables, por ejemplo, debido a enfermedades, tratamientos médicos o alteraciones de la piel.

El estudio se centra en el octocrileno, un filtro ultravioleta ampliamente utilizado en protectores solares y otros productos cosméticos. Este ingrediente ha sido evaluado previamente por las autoridades europeas y se considera seguro para la población general cuando se utiliza según las condiciones normales de uso. No obstante, los autores plantean una cuestión adicional relevante para la protección de la salud: ¿qué ocurre en personas con determinadas enfermedades, como pacientes oncológicos o personas con dermatitis atópica, que pueden necesitar un uso más frecuente de estos productos o que pueden absorberlos de forma diferente?

Para abordar esta cuestión, el trabajo aplica de forma práctica el enfoque NGRA del que hemos hablado en epígrafes anteriores, apoyándose también en las NAMs para recopilar y analizar información sin recurrir a la experimentación con animales. En concreto, se utilizan datos procedentes de estudios en personas voluntarias, ensayos de laboratorio en células humanas que permiten analizar posibles efectos biológicos,

y el análisis integrado de información existente mediante bases de datos y modelos científicos. En lugar de limitarse a comprobar si se superan o no determinados límites de seguridad, este enfoque combina toda esta información para entender mejor cómo se comporta la sustancia en el organismo y en qué situaciones pueden aparecer riesgos adicionales. Este modo de evaluación permite identificar posibles factores de vulnerabilidad y anticipar problemas antes de que se produzcan, lo que resulta especialmente útil en el caso de grupos de población con condiciones de salud específicas.

En el caso del octocrileno, los resultados muestran que, aunque no existen preocupaciones relevantes para la mayoría de la población, sí se detectan efectos biológicos que podrían ser importantes en determinadas circunstancias. Por ejemplo, los estudios de laboratorio indican que esta sustancia puede influir en el funcionamiento del hígado y en procesos relacionados con las hormonas. En personas sanas, estos efectos no suponen un problema, pero en pacientes oncológicos podrían ser relevantes, ya que algunos tratamientos médicos dependen del correcto metabolismo de los fármacos en el organismo.

Asimismo, el estudio analiza la situación de las personas con dermatitis atópica, una enfermedad en la que la barrera natural de la piel está dañada. En estos casos, la piel puede permitir una mayor absorción de las sustancias aplicadas, lo que podría aumentar la cantidad que pasa a la dermis y al torrente sanguíneo.

Es importante destacar que este trabajo no concluye que el octocrileno sea peligroso para estos grupos de población. Su valor principal reside en mostrar cómo la NGRA y las NAMs permiten detectar posibles factores de riesgo y señalar la necesidad de recomendaciones específicas, como un uso más controlado del producto, una mejor información a los profesionales sanitarios o la realización de estudios adicionales para reducir la incertidumbre.

En conjunto, estos casos prácticos demuestran cómo las evaluaciones de riesgo de nueva generación contribuyen a una protección más ajustada a la realidad, teniendo en cuenta que las personas no reaccionan todas de la misma manera. La aplicación de la NGRA y de las NAMs permite avanzar hacia una evaluación más preventiva, transparente y centrada en las personas, mejorando la toma de decisiones y la comunicación del riesgo en productos de uso cotidiano.

6. Integración de evaluaciones para la salud y la perspectiva “Una Salud” (One Health)

6.1. ¿Qué significa “Una Salud” (One Health)?

6.1.1. Introducción al concepto de “Una Salud” (One Health)

El concepto de “Una Salud” (One Health) representa un enfoque integral que reconoce la interdependencia entre la salud humana, la salud animal y la salud del medio ambiente. Este enfoque sostiene que la salud de las personas no puede considerarse de manera aislada, ya que depende directamente de la salud animal y de la salud del medio ambiente (Gibbs, 2014; Zinsstag et al., 2011).

Históricamente, la medicina humana, la veterinaria y la gestión ambiental han operado de manera separada, cada una con sus propios objetivos y metodologías. Sin embargo, la aparición de enfermedades zoonóticas emergentes, la resistencia antimicrobiana, el impacto de las sustancias químicas y los efectos del cambio climático, han evidenciado que los problemas de salud son complejos e interaccionan entre sí requiriendo un enfoque colaborativo y multidisciplinario (Destoumieux-Garzón et al., 2018; Yasobant et al., 2024).

El enfoque “Una Salud” (One Health) busca comprender estas interacciones y promover acciones coordinadas que permitan prevenir, detectar y controlar riesgos sanitarios de manera más efectiva. Esto significa que, para caracterizar adecuadamente los riesgos, no basta con evaluar por separado la exposición y los efectos en personas, animales o ecosistemas, sino que es necesario considerar cómo los impactos en uno de estos grupos pueden generar riesgos y consecuencias para los otros.

En el marco de la evaluación de riesgo de sustancias químicas, una de las características destacables de la forma en la que se han enfocado tradicionalmente es esa falta de integración que hemos mencionado anteriormente. En general las evaluaciones, sobre todo en el marco normativo, se hacen de forma independiente para cada sustancia/producto, incluso con caracterizaciones de riesgo separadas para cada uso y cada receptor (salud humana, animal o medio ambiente), y, como mucho, se busca colaboración en aquellos aspectos comunes, como en algunas fases del análisis de la exposición, pero no se tiende a la integración de los resultados. En este libro, utilizaremos el concepto de “Una Salud” (One Health) como marco integrador de las evaluaciones de riesgo químico descritas en los capítulos anteriores, incluyendo las aproximaciones de nueva generación (NGRA) y las nuevas aproximaciones metodológicas sin uso de animales (NAMs). De este modo, pasaremos de una visión centrada casi exclusivamente en el riesgo directo para la salud humana a una aproximación más amplia, donde los efectos sobre el medio ambiente y los ecosistemas se consideran parte de la misma realidad sanitaria (figura 12).

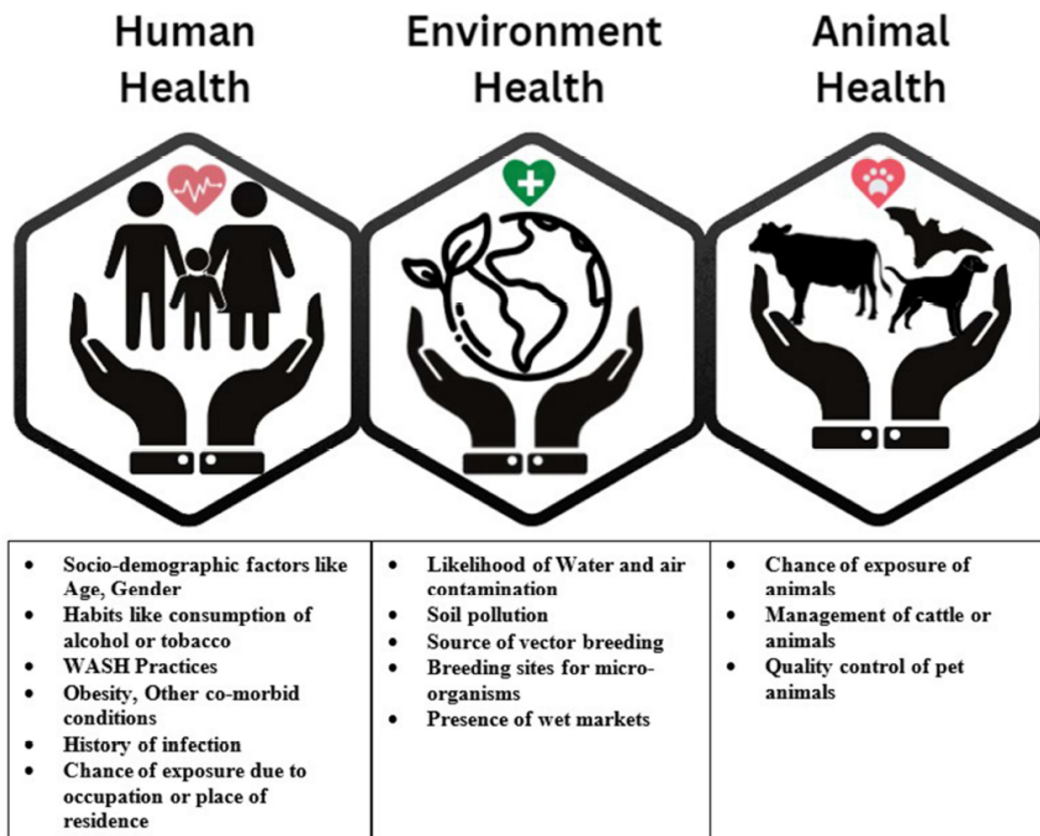


Figura 12. Perspectivas futuras propuestas para la herramienta de evaluación de riesgos One Health (tomado de Yasobant et al., 2024).

6.1.2. Hacia una evaluación integrada: más allá de la exposición compartida

Como hemos mencionado anteriormente, las evaluaciones para salud humana, salud animal y medio ambiente se realizan de forma independiente sin una integración de los resultados. Sin embargo, cuando queremos utilizar la evaluación de riesgos para poder caracterizar los impactos sobre la salud y sus consecuencias, es necesario realizar una integración de todos estos aspectos, considerar no sólo los impactos negativos sino también los positivos cuando existen, y considerar de forma conjunta los impactos sobre la salud para identificar y evaluar las posibles consecuencias.

Las aproximaciones “Una Salud” (One Health), estudian la interrelación entre salud humana, salud animal y salud ambiental, ofreciendo una perspectiva ideal para esta integración. En las evaluaciones de riesgos tradicionales ya se contempla la interacción a través de la exposición, por ejemplo, la exposición de personas y animales a contaminantes ambientales o de los consumidores a residuos de los productos utilizados en plantas y animales de consumo. Pero para la integración de los impactos, debemos incluir un nivel adicional de relación, en el que los impactos sobre un grupo generan un riesgo e impactos potenciales con consecuencias para la salud de los otros grupos, por ejemplo, las consecuencias para la salud humana ligadas a la degradación de los ecosistemas, afectando a la salud y bienestar de los habitantes de la zona y visitantes ocasionales. La consideración de estos impactos indirectos y de sus consecuencias es compleja, por lo que para facilitar el proceso se deben proponer diversos marcos conceptuales.

6.2. La salud de los ecosistemas como nexo integrador

6.2.1. Los servicios de los ecosistemas como marco para la evaluación del riesgo químico

Una vez establecida la necesidad de integración, el reto es identificar el marco conceptual más adecuado para operacionalizarla en el contexto de la evaluación del riesgo químico. El que nos parece más apropiado de cara a conectar las evaluaciones de riesgo sanitarias y ambientales es el que considera los servicios que ofrecen los ecosistemas. El concepto de “servicios de los ecosistemas” se desarrolló inicialmente con el objetivo de “monetizar”, es decir dar valor económico a los beneficios que obtiene el ser humano de los ecosistemas. Dentro de estos servicios se incluyen varios relacionados directa o indirectamente con la salud y el bienestar (Hernández-Blanco et al., 2022). La EFSA ha utilizado el marco conceptual de los servicios de los ecosistemas en la formulación de evaluaciones de riesgos ambientales de sustancias químicas y otros agentes (EFSA Scientific Committee, 2016), sentando las bases para evaluar los impactos ambientales de las sustancias químicas como impactos sobre los servicios de los ecosistemas.

En nuestra propuesta, sugerimos que en vez de para la monetización económica, los impactos sobre los servicios de los ecosistemas se utilicen en primer lugar para evaluar las conexiones entre salud humana, animal y ambiental. En este sentido, los servicios de los ecosistemas representan una buena estrategia para trasladar el concepto tradicional de las evaluaciones de riesgos ecológicos “evaluar los efectos sobre la estructura y función de los ecosistemas”, en la evaluación de los impactos sobre “la salud de los ecosistemas”. Uno de los aspectos a considerar es que la práctica totalidad de los ecosistemas sufren modificaciones antropogénicas intencionadas, ligadas al uso que los seres humanos queremos hacer de esa zona y de sus recursos. Las modificaciones intencionadas pueden estar limitadas si la utilización es para usos recreativos, o suponer una transformación total como en el caso de explotaciones agrícolas donde los ecosistemas son transformados en “agrobiosistemas” creando nuevas comunidades y una transformación total de la biodiversidad. Estas modificaciones suponen una adaptación/transformación para maximizar los servicios que los seres humanos obtenemos de esos ecosistemas o agrobiosistemas. Estos cambios intencionados por uso/aprovechamiento adaptan las funciones de los ecosistemas y modifican la biodiversidad local, algunas especies se adaptan, otras desaparecen, y se crean nuevos hábitats que facilitan la migración de nuevas especies. Por ello, en las evaluaciones de riesgo de sustancias químicas, debemos considerar el tipo de ecosistema o agrobiosistema que recibirá la exposición a las sustancias químicas y para el que queremos evaluar los posibles efectos.

6.2.2. Salud ecosistémica, zoonosis y vulnerabilidad

La adopción del concepto de salud de los ecosistemas tiene implicaciones directas sobre cómo definimos los parámetros utilizados para la evaluación de riesgo y cómo interpretamos sus consecuencias para la salud humana y animal. Si utilizamos una definición de salud *sensu stricto*, como la de la RAE “Estado en que el ser orgánico ejerce normalmente todas sus funciones” ligada a la ausencia de enfermedad, podemos extenderla para definir la salud de los ecosistemas/agrobiosistemas como el “Estado en el que un ecosistema/agrobiosistema ejerce normalmente todos los servicios que requieren sus comunidades biológicas y los ligados a su uso/aprovechamiento por los seres humanos”. De esta forma, evaluaremos los riesgos ecológicos como la probabilidad y magnitud de que se afecten los servicios de los ecosistemas, y estudiaremos las posibles consecuencias de estas alternaciones sobre la salud humana y animal.

Esta definición conecta directamente con el concepto de vulnerabilidad: un ecosistema con pérdida de salud ya sea por contaminación química, cambio climático o ambos factores actuando sinérgicamente, incrementa la exposición y sensibilidad de las comunidades frente a múltiples amenazas sanitarias. Por ejemplo, uno de los servicios que se ve frecuentemente afectado tanto por contaminantes químicos como por cambio climático es la capacidad de controlar especies invasoras, cuya introducción se facilita por el comercio global. Estas especies pueden dar lugar a procesos de zoonosis, es decir, son especies que actúan como vectores de enfermedades, y de hecho podemos constatar en las últimas décadas la extensión de muchas enfermedades infecciosas a zonas previamente libres como consecuencia de la propagación de sus vectores. Las zoonosis, por tanto, no son un fenómeno ajeno al riesgo químico: la degradación química del ecosistema puede ser precisamente el factor que facilite su emergencia y expansión, lo que refuerza la necesidad de evaluaciones integradas bajo el enfoque One Health.

La vulnerabilidad, sin embargo, no es solo una característica de los ecosistemas: como hemos visto en el apartado 5.4.2, también puede derivar de condiciones individuales de salud, como en el caso de pacientes oncológicos o personas con dermatitis atópica expuestos a filtros solares como el octocrileno (Fernández-Martín and Tarazona, 2025); o de la exposición combinada a contaminantes como los piretroides en alimentos (Fernandez-Agudo and Tarazona, 2025). El enfoque One Health integra ambas dimensiones de la vulnerabilidad, la ecosistémica y la individual, ofreciendo un marco más completo para la evaluación del riesgo químico.

6.3. Marco metodológico para la evaluación de riesgos integrada

6.3.1. Adaptación de la evaluación de riesgo clásica al enfoque "Una Salud" (One Health)

Definido el marco conceptual, es necesario trasladarlo a una metodología operativa que permita su aplicación práctica en las evaluaciones de riesgo de sustancias químicas. Esta adaptación implica ampliar tanto la definición de salud que se toma como referencia como las fases del proceso evaluador. Por ello, se pueden utilizar definiciones de salud más integradoras como la de la OMS “estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades”. En este sentido, la definición de salud de los ecosistemas/agrobiosistemas que se ha propuesto en la sección anterior sigue siendo válida en esta ocasión, pero debemos extender los servicios que pueden afectar potencialmente a la salud a la práctica totalidad de los servicios de los ecosistemas/agrobiosistemas, incluyendo las consecuencias indirectas sobre la salud de pérdidas en el rendimiento económico que afecten el bienestar social de las personas, les dificulten disponer de una alimentación saludable, etc.

La adopción de esta definición más amplia requiere adaptar las fases clásicas de la evaluación de riesgo. Así, la identificación del peligro debe contemplar simultáneamente los efectos sobre organismos humanos, animales y ecosistémicos. La caracterización de la exposición debe tener en cuenta las rutas compartidas y las transferencias entre compartimentos ambientales. Y la caracterización del riesgo debe integrar los impactos directos e indirectos, considerando también los beneficios del uso de las sustancias químicas cuando existan.

6.3.2. Integración con el desarrollo sostenible: indicadores de salud

El enfoque One Health tiene un potencial que va más allá de la integración sanitaria. Su capacidad para conectar impactos sobre distintos receptores y dominios lo convierte en un punto de partida natural

para vincular la evaluación de riesgos con los marcos de sostenibilidad, donde las dimensiones económica, social y ambiental han operado históricamente de forma compartimentada. En este caso podemos integrar las aproximaciones One Health con las de desarrollo sostenible. En un trabajo recientemente publicado (Anadón et al., 2025) hemos propuesto una alternativa innovadora para realizar esta integración en el caso de medicamentos y productos biocidas, donde los beneficios esperados del uso están también relacionados con beneficios para la salud. Se propone desarrollar indicadores para los tres pilares de la sostenibilidad, económico, social y ambiental, que sean indicadores de salud en vez de indicadores monetarios. Dentro del pilar económico se incluirían los ligados a la sanidad animal y vegetal de las explotaciones agrícolas y ganaderas, el pilar social se basaría en la salud y bienestar humano de acuerdo con la definición de la OMS así como la salud y bienestar de los animales de compañía, y para el pilar ambiental se utilizarían los servicios de los ecosistemas/agrobiosistemas de acuerdo con la definición de salud de los ecosistemas propuesta anteriormente.

6.4. Ejemplo de aplicación del enfoque “Una Salud” (One Health) en evaluaciones de riesgo integradas

6.4.1. El diclofenaco y el colapso de los buitres en la India

Los principios desarrollados en los apartados anteriores encuentran su mejor ilustración en casos reales donde la evaluación de riesgo integrada habría permitido anticipar consecuencias que un enfoque tradicional no fue capaz de prever. El caso del diclofenaco en la India es probablemente el ejemplo más citado en la literatura One Health y uno de los más elocuentes para mostrar la necesidad de integrar la salud animal, ecosistémica y humana en una evaluación común. Este antiinflamatorio, ampliamente utilizado en ganado, se acumuló en los cadáveres de los animales tratados. Los buitres, al alimentarse de dichos cadáveres, sufrieron un fallo renal masivo que llevó al colapso de sus poblaciones en todo el subcontinente indio en apenas una década (Green et al., 2004; Oaks et al., 2004; Shultz et al., 2004). La desaparición de estos carroñeros, un servicio ecosistémico de regulación de primer orden provocó la acumulación de cadáveres, el aumento de poblaciones de ratas y perros asilvestrados y, con ello, un incremento significativo de casos de rabia y otras enfermedades zoonóticas en la población humana (Frank et al., 2023). Este caso demuestra que la evaluación de riesgo de una sustancia química en el ámbito veterinario no puede realizarse de forma aislada: los impactos sobre la fauna silvestre alteran servicios ecosistémicos que, a su vez, generan consecuencias directas sobre la salud pública, siguiendo exactamente la lógica de impactos en cascada que propone el enfoque One Health.

6.4.2. El cambio climático como modificador global de riesgos

Si el caso del diclofenaco ilustra cómo un contaminante concreto puede desencadenar consecuencias sistémicas, el cambio climático representa una amenaza de orden superior: un factor global que modifica las condiciones de base en las que operan todos los demás riesgos químicos y biológicos, amplificando sus efectos de forma difícilmente predecible desde enfoques tradicionales. El cambio climático actúa como un modificador global de riesgos, alterando la distribución de vectores, la frecuencia de eventos extremos y la dinámica de los ecosistemas, lo que puede amplificar los efectos de los contaminantes químicos y favorecer la aparición o expansión de enfermedades infecciosas en nuevas áreas (IPCC, 2023). El aumento de temperaturas, los cambios en patrones de precipitación y la mayor frecuencia de sequías e inundaciones modifican la idoneidad de hábitats para mosquitos, garrapatas y otros vectores, desplazando su área de

distribución hacia latitudes y altitudes previamente libres y facilitando la emergencia de enfermedades como dengue, chikunguña o fiebre del Nilo Occidental en regiones donde antes no se registraban (Caminade et al., 2019; Ryan et al., 2019; Thomson and Stanberry, 2022). Al mismo tiempo, estos cambios climáticos pueden interactuar con la contaminación química, afectando a procesos como la degradación de sustancias, la bioacumulación o el estrés fisiológico de organismos, y aumentando la vulnerabilidad de ecosistemas y poblaciones humanas frente a exposiciones que, en otras condiciones, podrían haber sido tolerables (Noyes et al., 2009). Esta interacción entre riesgo químico y cambio climático refuerza la necesidad de evaluaciones integradas que no analicen los contaminantes de forma aislada, sino en el contexto de los factores ambientales globales que modulan su peligrosidad real. En este sentido, las metodologías NGRA aplicadas en el apartado 5.4.2 representan herramientas que pueden incorporarse a este marco integrado para caracterizar con mayor precisión los riesgos sobre poblaciones y ecosistemas cuya vulnerabilidad ha sido previamente amplificada por el cambio climático.

7. Líneas de investigación futura: la evaluación de riesgos como base científica para la cuantificación de impactos en Salud Pública y Salud Ambiental

7.1. La metodología de evaluación de riesgos químicos como herramienta de investigación sanitaria

Las metodologías de evaluación de riesgos de sustancias químicas se proponen inicialmente en el marco normativo y se han ido desarrollado fundamentalmente en este contexto. La idea es proporcionar una base científica para facilitar la toma de decisiones, dentro del ciclo de análisis de riesgos.

Cuando en Europa, Norte América y otras áreas geográficas se empieza a desarrollar conciencia social sobre la necesidad de desarrollar instrumentos legales de control de las sustancias químicas peligrosas; emerge la necesidad de desarrollar metodologías para realizar estas evaluaciones. Se apuesta por metodologías de base científica que permitan decidir sobre la autorización y o restricción de determinadas sustancias y sus usos; las evaluaciones de riesgos basadas en el paradigma desarrollado en el siglo XX, constituyen la mejor opción. Dentro de este proceso, se pierde el significado real de una evaluación de riesgo: “identificación de la probabilidad y magnitud de que se originen efectos adversos”, simplificándolo en metodologías de “nivel uno” en el que se compara un valor guía con un nivel de exposición.

El desarrollo de las metodologías de evaluación de riesgos ha creado interés también en áreas científicas no directamente relacionadas con el marco normativo, y se ha ido extendiendo la utilización de evaluaciones de riesgo en estudios y publicaciones científicas. Sin embargo, en muchos casos, los investigadores se limitan a utilizar los valores de referencia propuestos por agencias reguladoras Europeas o Americanas, sin considerar cual es la base científica de los mismos, olvidando en algunos casos que el valor final tiene una parametrización y una serie de consideraciones ligadas a los niveles de aceptabilidad establecidos por cada legislación y/o los gestores.

De hecho, para la misma sustancia, e incluso en base a los mismos estudios, es frecuente encontrar valores guía diferentes en diferentes jurisdicciones e incluso en diferentes sectores dentro de la misma jurisdicción. Un ejemplo ilustrativo lo podemos encontrar en la evaluación del valor guía para el cobre en la dieta por parte de la EFSA. La EFSA proporciona soporte científico en relación con diferentes normativas, y realizó evaluaciones de riesgo relacionadas con el cobre como nutriente esencial, así como con la presencia de cobre en alimentos como residuo de sus usos como aditivo para alimentación animal y como plaguicida en productos fitosanitarios. La aplicación de las metodologías para establecer valores guía de exposición por la dieta, desarrolladas para cada uno de los marcos normativos, proporcionó valores diferentes, y como consecuencia, la EFSA tuvo que establecer primero un marco general para estas comparaciones (More et al., 2021) y después una opinión específica integrando las diferentes metodologías para proponer un valor guía general para el cobre en la dieta (EFSA Scientific Committee et al., 2023).

La aplicación de estas metodologías de Nivel 1 fuera del marco normativo puede tener sentido en los procesos iniciales de selección y priorización, pero requiere conocer en detalle la información utilizada para fijar el valor guía, específicamente la metodología, nivel de aceptabilidad, y parámetros por defecto utilizados en ese marco normativo concreto.

Asumir que la exposición a una sustancia química no va a tener impactos sobre la salud humana o de los ecosistemas simplemente porque está por debajo de los valores guía propuestos por un organismo concreto y

bajo una normativa concreta refleja un desconocimiento profundo de la realidad; y el caso contrario, asumir que si la exposición supera el valor guía debemos esperar impactos en la salud, es todavía más insostenible científicamente. Entrando en detalle en el primer caso, debemos considerar que el valor guía se establece en base a la información toxicológica disponible, y por ello solo cubre aquellos efectos toxicológicos que se han estudiado en dichos estudios. Puesto que la mayoría de las evaluaciones se basan en estudios estandarizados con animales de laboratorio, algunos efectos muy relevantes para la salud, como los de inmunotoxicidad y en muchos casos neurotoxicidad, son muy difíciles de observar en estos estudios, y por ello los valores guía no siempre son capaces de proteger frente a estos efectos. Un ejemplo carismático lo encontramos en la evaluación del riesgo de PFAS, donde tras evaluar varios estudios epidemiológicos sobre fallos vacunales la EFSA concluyó que los valores guías establecidos previamente en base a estudios en animales de experimentación eran insuficientes y recomendó nuevos valores significativamente menores (EFSA CONTAM Panel et al., 2020). Otra posible situación que debemos considerar es que, en algunos casos, el valor guía está basado en una decisión política que no refleja la evaluación toxicológica. Este es frecuentemente el caso cuando los niveles de exposición superan los valores guía toxicológicos, pero no es viable reducir la exposición por debajo de estos niveles; esto ocurre con diferentes contaminantes ambientales en las grandes ciudades, o cuando la reducción tendría otras consecuencias adversas en otros ámbitos, como la presencia de mercurio y otros contaminantes en el pescado. En estos casos el valor guía depende de una evaluación coste/beneficio o riesgo/beneficio, y admite exposiciones que pueden suponer un riesgo potencial para la salud, pero que no puede reducirse más sin entrar en costes considerados inaceptables o sin afectar a beneficios evidentes como el consumo de pescado azul en la dieta. En el sentido contrario, la mayoría de los valores guía se basan en procedimientos genéricos que se han definido para dar un elevado nivel de protección, y niveles que superen los valores guía no necesariamente van a producir efectos sobre la salud; si los estudios existentes son capaces de cubrir los efectos más relevantes y no hay mecanismos específicos que aumenten la toxicidad para el ser humano, los factores de extrapolación entre e intra especies proporcionan un amplio margen entre el valor guía recomendado y los niveles de exposición para los que se tiene evidencia de efectos sobre la salud.

Estas reflexiones no significan que debamos desechar las evaluaciones normativas, sino que debemos analizarlas en detalle y en vez de “copiar y pegar” el valor guía, evaluar su relevancia para nuestro estudio concreto, justificar la elección y adaptarlo cuando sea necesario. En la sección 7.3 se propone una metodología de adaptación de estos valores guía, adaptable tanto a los estudios prospectivos como a los retrospectivos. Las agencias normativas y grupos de expertos que proponen valores guía, en general, actúan de forma transparente y proporcionan detalles sobre la información disponible y justifican su evaluación y propuestas. Para algunas como la EFSA, la transparencia es esencial, y podemos encontrar en sus guías metodológicas información detallada sobre la información y consideraciones en las que se basan cada uno de los escenarios y valores por defecto propuestos; así como detalles concretos en cada opinión sobre la evaluación de las diferentes líneas de evidencia utilizadas para establecer el valor guía recomendado. Por ejemplo, volviendo a la opinión de la EFSA sobre PFAS, (EFSA CONTAM Panel et al., 2020); nos indica claramente que el valor guía propuesto está basado en la protección de efectos en el neurodesarrollo del feto en mujeres embarazadas, y proporciona información detallada sobre el punto de partida seleccionado y los modelos toxicocinéticos empleados para establecer el valor guía. Por ello, lo primero que deberíamos hacer cuando queremos utilizar un valor guía preestablecido, es valorar si el escenario y efecto toxicológico seleccionado son relevantes para nuestro estudio, y segundo examinar los parámetros y valores por defecto y determinar si también son adecuados o si debemos adaptarlos al ámbito y objetivo de nuestro estudio. En cuanto a los factores de extrapolación o incertidumbre, es decir el valor por el que se divide el PoD para establecer el valor guía, hay que considerar que incluyen connotaciones de gestión, y no sólo la incertidumbre científica. Un ejemplo ilustrativo son los

factores utilizados para establecer valores guías para organismos acuáticos. Cuando en los años 1980-1990 se empezaron a desarrollar las metodologías en diferentes jurisdicciones y sectores se utilizaron factores de extrapolación muy diferentes (Tarazona, 1997), y más de un cuarto de siglo después podemos comprobar que se mantienen las diferencias.

Por ello, para estudios científicos fuera del marco normativo, recomendamos la utilización de metodologías de caracterización de riesgo basadas en “márgenes de exposición” (MoE – *Margin of Exposure*) o directamente metodologías probabilísticas combinando toda la información disponible.

Los MoE se definen como el cociente entre el PoD seleccionado y el nivel de exposición estimado o medido:

$$\text{MoE} = \text{PoD} / \text{Nivel de Exposición}$$

Cuanto menor sea el MoE, mayor el nivel de riesgo. Podemos determinar los MoE para diferentes PoD y a partir de estos valores interpretar los niveles de riesgo, al menos en términos relativos, y enfocarnos en los más relevantes. Esta metodología nos permite también evaluar el riesgo combinado de la exposición a diferentes sustancias, siempre que utilicemos PoD toxicológicamente equivalentes para todas ellas. Se puede encontrar un ejemplo para piretroides en Fernandez-Agudo and Tarazona (2025), donde se utilizan MoE para comparar los niveles de riesgo obtenidos con los modelos tradicionales basados en estudios experimentales en animales con los estimados a partir de ensayos *in vitro* (Fernandez-Agudo and Tarazona, 2025).

Un aspecto importante en las caracterizaciones de riesgo normativas es que los valores guías dependen de la información disponible, por lo que pueden cambiar en el tiempo cuando se producen reevaluaciones. La caracterización de riesgos mediante MoE también se puede utilizar para comparar la evolución temporal de los niveles de riesgo cuando se van tomando medidas normativas. Por ejemplo, la EFSA ha modificado varias veces los valores guía para el insecticida organofosforado clorpirifos, y estas recomendaciones han supuesto cambios en los niveles máximos de residuos en los alimentos. En el estudio Tarazona et al. (2022), se presenta una serie temporal desde el año 2012, analizando los riesgos estimados en función de los niveles de residuos de este insecticida en alimentos medidos en el programa de monitoreo de la Unión Europea, cuantificando la reducción progresiva del riesgo para los consumidores desde el año 2015 a través del incremento de los MoE (Tarazona et al., 2022).

7.2. Evaluaciones retrospectivas basadas en el paradigma convencional.

La mayoría de los procesos de exposición ambiental son complejos, por lo que las evaluaciones de riesgo retrospectivas pueden constituir una herramienta fundamental, tanto en evaluaciones de Salud Pública como en las de Salud de los Ecosistemas.

Al igual que en las evaluaciones prospectivas, las evaluaciones pueden realizarse por niveles, partiendo de un primer nivel basado en valores guías que en este caso se comparan con los niveles medidos en programas de monitoreo humano o ambiental (Tarazona, 2023a).

Este tipo de estudios han sido tradicionalmente utilizados en evaluaciones de sanidad ambiental incluyendo efectos para la salud humana a través de exposiciones ambientales. Se iniciaron en relación con el medio acuático, estableciendo límites para agua potable, y posteriormente para comunidades ecológicas acuáticas (Bro-Rasmussen F. et al., 1994). En este sentido, en la Unión Europea, las actividades más relevantes han sido en relación con la Directiva Marco del Agua, dentro de la cual se han desarrollado los Ecological Quality Standards (EQS), como valores guía de calidad toxicológica para organismos acuáticos. La metodología

para establecer los EQS representa una adaptación de la metodología previamente desarrollada para las evaluaciones de riesgo prospectivas de sustancias químicas industriales (CSTEE, 2004; DG Environment, 2018). Posteriormente esta metodología se extendió a otros compartimentos ambientales (Tarazona, 2023b) y en particular al suelo, aunque en este caso las propuestas han sido a nivel nacional sin armonizarlas a nivel europeo (Tarazona et al., 2005).

En relación con la exposición por inhalación, los primeros desarrollados fueron para ambientes laborales, dentro de la evaluación de salud ocupacional, extendidos a ambientes exteriores en relación con contaminantes atmosféricos, así como a ambientes interiores relevantes para la población general.

Uno de los aspectos que ha recibido recientemente más atención ha sido el desarrollo de valores guía para estudios de biomonitorización humana en matrices como orina o plasma, denominados “human biomonitoring guidance values” (HBM-GV) (Govarts et al., 2023). Pueden basarse en estudios en seres humanos cuando existe suficiente información, o en la extrapolación de los valores guía propuestos en las evaluaciones prospectivas, estimando la concentración interna equivalente al valor guía de exposición externa, mediante modelos toxicocinéticos (Santonen et al., 2023). La complejidad aumenta en el caso de compuestos que se metabolizan significativamente, de forma que los marcadores, sobre todo en orina, son los metabolitos generados, que en algunos casos son metabolitos comunes a diferentes compuestos del mismo grupo químico. Un ejemplo característico lo podemos encontrar para los piretroides. Son un conjunto de insecticidas/acaricidas con estructura química derivada de las piretrinas, insecticidas naturales extraídas de las flores de diferentes especies de crisantemos. Se utilizan como plaguicidas agrícolas, biocidas y medicamentos, y se metabolizan en el hígado generando algunos metabolitos comunes a varios piretroides, lo que ha requerido desarrollar metodologías específicas para poder refinar las evaluaciones de riesgos de cada uno de los piretroides por separado y de la exposición conjunta (Tarazona et al., 2022) entre las que destacan las evaluaciones probabilísticas combinando los estudios de monitorización en alimentos y en muestras humanas (de Alba-Gonzalez et al., 2024).

7.3. Adaptación de valores guía normativos basados en el paradigma convencional.

Tanto en las evaluaciones prospectivas como en algunos estudios retrospectivos enfocados a asociar efectos sobre la salud con niveles medidos en muestras ambientales o humanas, se utilizan como referencia valores guía propuestos por organismos internacionales o agencias reguladoras de prestigio. Esta aproximación es muy lógica, pero debe realizarse de forma adecuada entendiendo las bases científicas que se utilizaron para proponer el valor guía, así como el marco normativo y su contexto. Para ello, proponemos el siguiente proceso, esquematizado en la Figura 13.

El proceso se describe a continuación utilizando ejemplos de estudios de efectos en salud humana, pero que pueden adaptarse fácilmente a estudios sobre efectos en ecosistemas.

La diferencia fundamental está en la extrapolación entre especies. En el caso de los estudios sobre salud humana, puesto que en la mayoría de los casos los estudios toxicológicos se han realizado en modelos animales, necesitamos valorar y justificar las posibles diferencias fisiológicas, es decir la extrapolación de los modelos animales al ser humano. En el caso de los estudios sobre efectos ambientales la extrapolación es la opuesta, tenemos información sobre unas pocas especies que debemos extrapolar al resto, y considerar además que incluso para las especies que tenemos información, las condiciones de los estudios en el laboratorio son muy diferentes a las condiciones que podemos esperar para la misma especie en el medio natural.

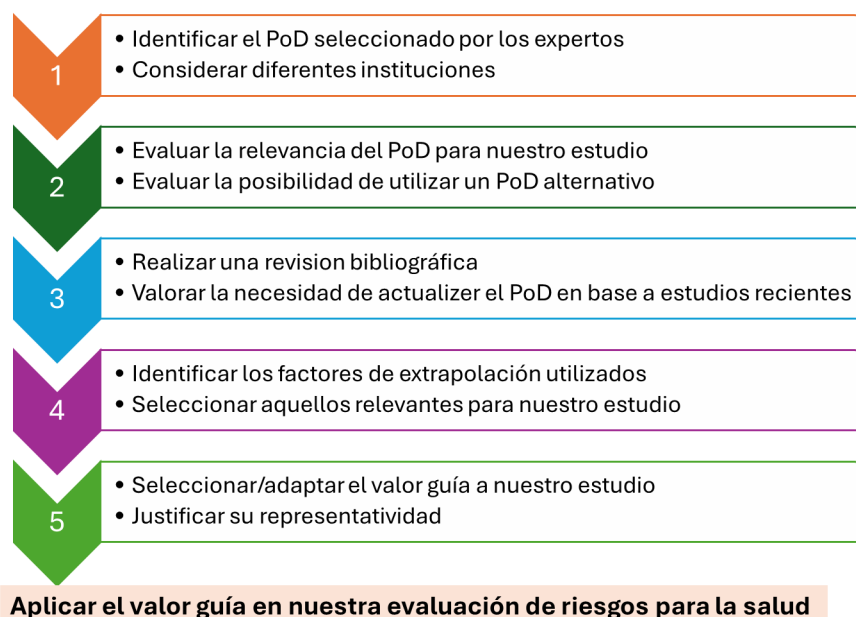


Figura 13. Proceso para evaluar la relevancia de un valor guía para una sustancia química propuesto por instituciones de evaluación de riesgos (como las agencias europeas o americanas) en un estudio de salud pública y ambiental.

1. Identificar el “Punto de Partida toxicológico” (PoD). Este valor corresponde a la dosis o nivel de exposición seleccionado a partir de los estudios toxicológicos o epidemiológicos utilizados para la evaluación. En general se trata de la dosis o nivel de exposición más alto para el que no se han observado efectos adversos relevantes diferentes de los observados en los grupos control no expuestos. Suele ser una NOAEL asociada a una LOAEL que indica el efecto observado, si bien cuando es posible se recomienda utilizar una BMD y seleccionar el límite inferior del intervalo de confianza para el valor de referencia seleccionado (BML_x). En algunos casos se utiliza como punto de partida dosis o niveles de exposición que representan un nivel de efecto, por ejemplo, la LOAEL o un nivel de exposición asociado a un determinado percentil de efecto en un estudio epidemiológico. Es relevante mencionar que la EFSA utiliza en algunos casos el término Reference Point para referirse al Punto de Partida toxicológico, esto puede crear confusión ya que, en algunos procesos normativos, agencias de EEUU como la EPA utilizan el término Reference Point como valor guía, es decir incorporando los factores de extrapolación. Muchas sustancias químicas han sido evaluadas por diferentes organismos, y es aconsejable en vez de seleccionar una institución *a priori* considerar todas las evaluaciones y ver similitudes y diferencias.

2. Evaluar la relevancia del “Punto de Partida toxicológico” (PoD) para nuestro estudio. Una vez identificado el punto de referencia, debemos extraer información sobre los efectos adversos utilizados para establecerlo, y sobre el resto de efectos observados en los estudios utilizados por los expertos y por ello cubiertos por el PoD. Con esta información, deberemos evaluar y justificar la relevancia de estos efectos para nuestro estudio concreto. Para ello, debemos considerar si el PoD es genérico, es decir, cubre cualquier tipo de efecto adverso observado, o si se centra en algún efecto o mecanismo concreto, por ejemplo, en la carcinogenicidad, toxicidad aguda, etc. Si en nuestro

estudio nos centramos en una serie de efectos adversos concretos, lo más apropiado sería seleccionar un PoD lo más relacionado posible con los efectos que queremos estudiar. Por ejemplo, si analizamos todos los estudios sobre efectos en la reproducción, nos solemos encontrar con varias NOAELs para reproducción, unas genéricas y otras específicas para efectos sobre las hembras gestantes, la progenie, el proceso de fecundación, etc., y podemos seleccionar aquella o aquellas más relevantes para nuestro estudio. Un aspecto relevante es que, si utilizamos un PoD genérico para un estudio sobre efectos específicos, deberemos confirmar que los estudios que sustentan el PoD incluyen efectos relevantes para nuestro estudio. Cuando en una evaluación para salud humana optamos por seleccionar un PoD más específico de estudios en animales, lo relevante es comprobar las similitudes y posibles diferencias fisiológicas y de respuesta entre el modelo animal experimental y el ser humano.

- 3. Actualizar la información sobre el PoD.** Los procesos para desarrollar valores guía realizados por las agencias e instituciones nacionales e internacionales son complejos y onerosos, por lo que los valores guía no siempre se actualizan con la frecuencia necesaria. Por ello, nos podemos encontrar que la revisión de información disponible utilizada para seleccionar el PoD no está actualizada. Cuando no dispongamos de un PoD reciente es aconsejable realizar una revisión bibliográfica para identificar nuevos estudios relevantes, que deberemos incorporar a nuestra evaluación.
- 4. Identificar los factores de extrapolación utilizados.** Los factores de extrapolación conectan el PoD con el valor guía, y cubren la variabilidad intra e interespecífica, correcciones en cuanto a tiempos y condiciones de exposición, así como incertidumbres adicionales. El valor global se puede obtener dividiendo el PoD por el Valor guía, pero es importante extraer información detallada sobre cada uno de los factores utilizados para valorar si son relevantes para nuestro estudio. Parte de la complejidad es que se utilizan diferentes terminologías para expresar estos factores, tales como factores de extrapolación, factores de incertidumbre, factores de seguridad, etc. Por ello, debemos centrarnos en la descripción para entender su relevancia. En muchos casos se utiliza un factor genérico de 10 para cubrir la variabilidad intraespecie y cuando el PoD se ha obtenido de estudios en animales experimentales, otro factor de 10 para cubrir la variabilidad entre especies. Además, se pueden utilizar otros factores dependiendo del tipo de estudio y calidad de los resultados de los que se ha extraído el PoD, por ejemplo, para extrapolar un PoD de un estudio de toxicidad subcrónica a uno crónico, o para cubrir resultados inciertos, extrapolar una LOAEL a la NOAEL, etc. En algunos casos hay que incluir extrapolaciones ligadas a las condiciones de exposición del estudio experimental, por ejemplo, considerando la absorción para extrapolar un PoD sistémico entre diferentes rutas de exposición o para adecuar el tiempo de exposición de los animales del estudio con el de la población para la que se quiere establecer el valor guía, por ejemplo considerando una exposición de 8 horas diarias durante 5 días a la semana en el caso de valores guía ocupacionales.
- 5. Seleccionar y/o adaptar el valor guía utilizado y su representatividad para nuestro estudio.** El último paso del proceso es decidir si el valor guía propuesto es adecuado para nuestro estudio o si debemos adaptarlo. En el primer caso, deberemos justificar la idoneidad del valor, así como la interpretación que debemos darle en el contexto de nuestro estudio. En general, los valores guía se desarrollan como puntos de corte en un marco donde prevalece la protección, es decir cuando los niveles de exposición son inferiores al valor guía se considera que la probabilidad de que la exposición suponga efectos adversos para la salud en la población general es pequeña, y que cuando se superan debemos refinar la evaluación. Sin embargo, en algunos casos, se proponen valores guías bajo otros contextos y condiciones; por ejemplo, para algunos contaminantes los niveles de exposición reales

superan los límites deseables, y los valores guía son puntos de referencia para priorizar y evaluar actuaciones, y pueden estar asociados con unos niveles de efecto mayores de los deseados pero inevitables por causas técnicas o económicas, o compensados por evaluaciones beneficio/riesgo. Cuando la evaluación de la información indica la necesidad de adaptar el valor guía, modificando el PoD, los valores de extrapolación o ambos, deberemos incluir una justificación referenciada y clarificar la interpretación específica del valor guía propuesto dentro de nuestro estudio, siendo recomendable presentar de forma gráfica y detallada las similitudes y diferencias con los valores guías propuestos por las instituciones que hemos valorado.

7.4. De la evaluación de riesgos a la evaluación de impactos sobre la salud.

Como hemos comentado, las evaluaciones de riesgos de sustancias químicas son herramientas metodológicas versátiles, que pueden utilizarse y adaptarse a los objetivos de diferentes tipos de estudios relacionados con la salud pública y ambiental. Conviene tener siempre presente que son herramientas, no tienen una finalidad en sí mismas, y que como herramientas complejas tienen limitaciones y requieren adaptaciones cuando se extraen del contexto inicial para el que se han desarrollado. Las evaluaciones de riesgo se pueden utilizar directamente en estudios prospectivos para determinar la probabilidad de que determinadas actividades o acciones generen un impacto negativo en la salud de los individuos expuestos; pero también pueden utilizarse como herramienta en estudios retrospectivos para evaluar impactos de sustancias químicas sobre la salud. En la Figura 14 se esquematizan tres tipologías básicas de estudios retrospectivos sobre impactos en salud relacionados con la exposición a sustancias químicas. Es importante señalar que algunos estudios se basan en la combinación de varias tipologías.

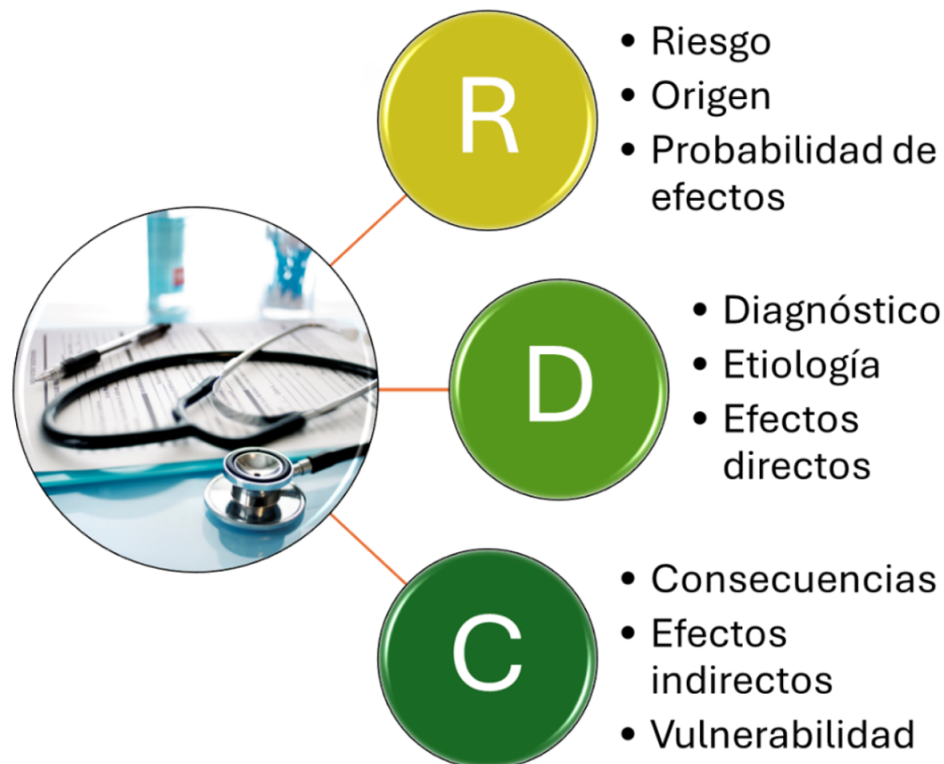


Figura 14. Tipologías de estudios de investigación en salud y sus características.

Como hemos indicado anteriormente, un estudio retrospectivo de evaluación de riesgos se centra en evaluar la posible asociación entre los impactos observados en la salud y posibles orígenes o fuentes de exposición a sustancias tóxicas. Las sustancias químicas relevantes son las asociadas con cada posible origen o fuente, y asume la incertidumbre y existencia de diferentes alternativas, asignando a cada una de ellas una función de probabilidad. Por contraposición, un estudio de finalidad diagnóstica persigue identificar con el mayor nivel de certidumbre posible el agente etiológico responsable de la sintomatología observada. En principio ambos se centran en los efectos directos originados por la exposición a sustancias químicas, por lo que para tener la perspectiva completa deben complementarse con evaluaciones paralelas de las posibles consecuencias, o efectos secundarios, de esos impactos en la salud de los individuos.

En sanidad ambiental los niveles de exposición a sustancias químicas son en la mayoría de los casos inferiores a los responsables de cuadros clínicos de intoxicación específica, y generalmente los impactos son multifactoriales, magnificando la relevancia de considerar evaluaciones de riesgo en vez de estudios diagnósticos y de evaluar las consecuencias y efectos indirectos. De hecho, en algunas ocasiones las manifestaciones más evidentes pueden ser las de esos efectos indirectos. Por ejemplo, la exposición a una sustancia inmunotóxica puede favorecer la aparición de enfermedades infecciosas. Si nos centramos en metodologías diagnósticas descartaremos la intoxicación y concluiremos que la sintomatología se debe al agente infeccioso, mientras que si incluimos metodologías complementarias podremos identificar que la infección es consecuencia de una exposición química.

La evaluación de las posibles consecuencias es fundamental para poder tener una visión global de los impactos sobre la salud. En este sentido, es importante evaluar las consecuencias ligadas a los efectos directos ocasionados por la exposición a la sustancia química, así como las ligadas a los efectos indirectos, como la del ejemplo anterior en el que la exposición a una sustancia que afecta al sistema inmunitario disminuyendo nuestra capacidad de defendernos frente a agentes infecciosos. Consideraremos efectos directos aquellos que podemos observar en un estudio toxicológico experimental diseñado para evaluar los efectos de la sustancia ensayada sobre individuos sanos y bajo condiciones controladas y optimizadas para la especie utilizada. Estos son los estudios que se han utilizado tradicionalmente en evaluaciones de riesgo de sustancias químicas, y en muchos casos cuentan con protocolos estandarizados por la OCDE u otras organizaciones.

Dentro del paradigma tradicional de evaluación de riesgos, en la fase de evaluación de efectos se distingue la identificación de la peligrosidad y la caracterización de la peligrosidad. El propósito de la identificación de la peligrosidad es describir los posibles efectos directos asociados a la exposición a la sustancia, a partir de los cuales podremos considerar tanto las consecuencias directas para la salud de estos efectos, como inferir posibles consecuencias indirectas. En la caracterización de la peligrosidad consideraremos la relación entre las dosis o niveles de exposición y los efectos observados, y podremos establecer los PoD para aquellos efectos relevantes.

La evaluación de las posibles consecuencias indirectas requiere entender los mecanismos asociados a los efectos observados. Los estudios toxicológicos tradicionales en modelos animales son fundamentalmente de tipo “observacional” y se han centrado en efectos sobre el individuo o su progenie que puedan definirse como impactos adversos para la salud. Se han diseñado para identificar la peligrosidad de la sustancia química, y discriminan entre grandes grupos, por ejemplo, carcinogénicos, reprotóxicos, hepatotóxicos, nefrotóxicos, y en algunos casos permiten establecer diferencias, por ejemplo, entre carcinogénicos genotóxicos o no genotóxicos, o en el caso de los reprotóxicos si el efecto es sobre la fecundidad, toxicidad materna, gestación, o sobre la progenie. Este tipo de evaluaciones permiten inferir algunas de las posibles consecuencias indirectas,

pero únicamente a nivel general, ya que los efectos concretos observables y observados en los estudios experimentales dependen de las condiciones del estudio y de la fisiología de la especie modelo, y no siempre son directamente extrapolables al ser humano u otras especies.

La extrapolación de los efectos directos a los indirectos y sus consecuencias debe considerar las circunstancias y entorno en el que se desarrollan los individuos expuestos. Las connotaciones son muy diferentes dependiendo del tipo de estudio que vayamos a realizar, por lo que en las siguientes secciones abordaremos las cuatro tipologías que consideramos más relevantes:

- Análisis de consecuencias sobre la salud humana
- Análisis de consecuencias sobre salud y sanidad animal
- Análisis de efectos sobre los ecosistemas
- Análisis integrado de salud ambiental desde la perspectiva One Health

7.5. Análisis de consecuencias sobre la salud humana.

La utilización de modelos animales requiere la evaluación de las diferencias fisiológicas entre la especie modelo y el ser humano, lo que requiere información sobre los mecanismos asociados a la peligrosidad observa. Incluso para los efectos directos, determinadas diferencias fisiológicas son esenciales a la hora de interpretar los resultados. Un ejemplo típico lo encontramos en la evaluación de la carcinogenicidad en modelos experimentales con roedores. Por un lado, nos podemos encontrar con mecanismos de carcinogenicidad en roedores no relevantes para el ser humano, como los activadores del PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor alpha) que son mitogénicos hepáticos en roedores, incrementando la proliferación hepatocelular y con ello la incidencia de cáncer hepáticos, pero no en el ser humano y otras especies (Yamada et al., 2025). En sentido opuesto, debemos considerar mecanismos relevantes para el ser humano pero que no existen o están compensados en el modelo animal utilizado. Para poder incluir este tipo de mecanismos se requieren modelos de roedores “humanizados” o adaptados mediante ingeniería genética (De Vleeschauwer et al., 2024), que no están contemplados en los procedimientos estandarizados de evaluación de riesgos de sustancias químicas.

La aparición de NAMs descrita en las secciones anteriores, y en particular de modelos *in vitro* derivados de sistemas humanos, supone un salto cualitativo en nuestra capacidad de abordar las consecuencias de los efectos indirectos sobre la salud. Disponemos de modelos cada vez más complejos, como los organoides o los microsistemas con flujo dinámico denominados “órganos en un chip” para poder entender las relaciones a nivel molecular y subcelular de la interacción de las sustancias químicas con las estructuras biológicas, y como se mencionaba en los capítulos anteriores, se están desarrollando aproximaciones como las AOPs para relacionar estas interacciones con efectos adversos sobre el individuo.

La mayoría de los esfuerzos actuales en NGRA se centran precisamente en como evaluar si estas interacciones o eventos iniciales/intermedios desembocan o no en efectos que podemos considerar adversos. La idea inicial es que si los efectos no progresan hacia un efecto adverso no son relevantes. Sin embargo, si consideramos también los posibles efectos indirectos, este supuesto requiere nuevas consideraciones y una reevaluación de los mecanismos relacionados con la progresión de la adversidad.

Una de las líneas de investigación de la Unidad de Evaluación de Riesgos del Centro Nacional de Sanidad Ambiental del Instituto de Salud Carlos III, se centra precisamente en la reevaluación del paradigma de evaluación de riesgos y de la consideración del concepto de “adversidad” en el marco de la Salud Pública.

Como hemos comentado, los estudios toxicológicos en modelos animales utilizados en evaluaciones de riesgo son fundamentalmente “observacionales”. Los protocolos estandarizados definen el tipo de efectos que deben observarse en cada tipo de estudio, y la información que debe proporcionarse. En los estudios de toxicidad sistémica, se incluyen efectos sobre parámetros bioquímicos en sangre, peso y tasa de crecimiento, sintomatología clínica, alternaciones histopatológicas, etc. Cuando se analizan los resultados del estudio, se valora cada uno de los efectos, su relación con la exposición a la sustancia, así como su adversidad. Por ejemplo, una modificación en parámetros bioquímicos genéricos en sangre, cuando no está asociada a ningún otro efecto, suele considerarse como no adversa; mientras que cuando se observa una progresión, es decir, cuando a dosis mayores se empiezan a ver síntomas relacionados con esa modificación de los parámetros, se considera adversa. Por ello, el proceso requiere determinar si los efectos observados se pueden considerar o no adversos, lo que establece la diferencia entre la NOEL/LOEL, que se refieren a todos los efectos observados y asociados a la exposición a la sustancia química, frente a la NOAEL/LOAEL que se refieren específicamente a los efectos considerados adversos. En el marco de las AOP, se utiliza este concepto de adversidad como elemento final del proceso, de forma que el “Adverse Outcome” hacia el que progresan los eventos intermedios sería equivalente a los efectos adversos observados en un estudio experimental en modelos animales. La interpretación tradicional, es que, aunque se activen los eventos intermedios, si no progresan hacia el resultado adverso no son relevantes para la evaluación de riesgo, ya que el evento intermedio como tal, no se considera adverso. Esta aproximación facilita la comparabilidad con las evaluaciones basadas en modelos animales, y puede considerarse lógica si nuestro interés se focaliza en las consecuencias directas de la intoxicación por la sustancia en evaluación.

Sin embargo, cuando analizamos el proceso de progresión con detenimiento, debemos considerar dos situaciones muy diferentes desde el punto de vista de las consecuencias sanitarias, tal como se recoge en la Figura 15.

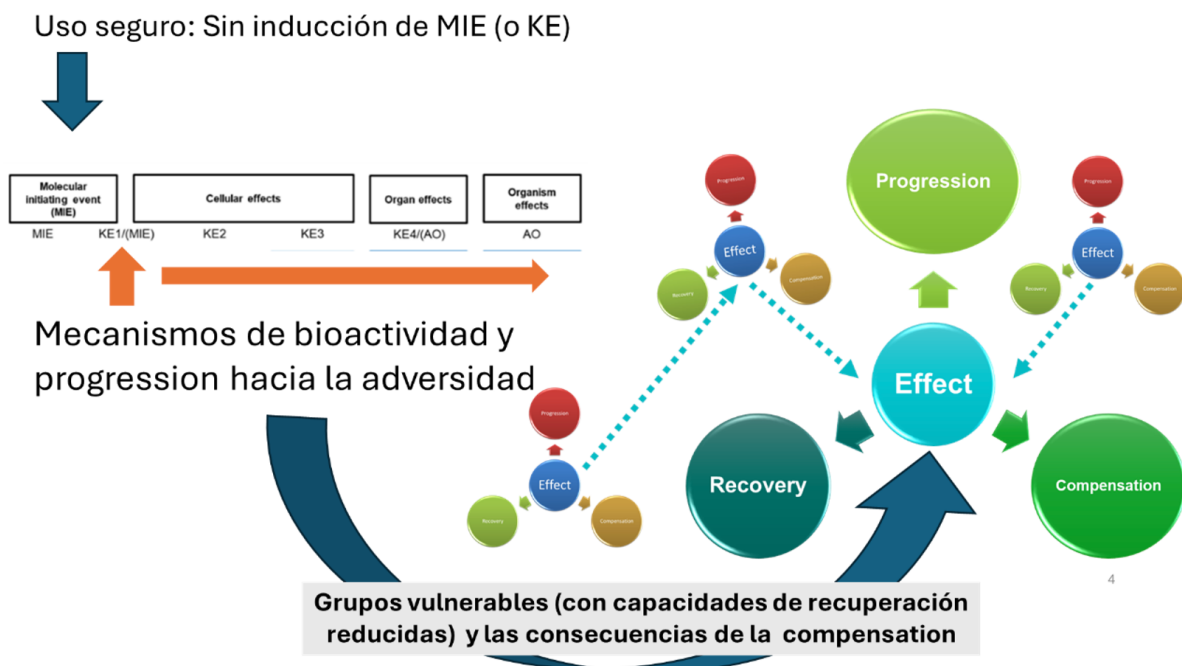


Figura 15. Descripción esquemática de los procesos ligados a la progresión de efectos dentro de una AOP.

El primer aspecto que debemos considerar es la interrelación entre diferentes eventos, aun cuando no estén linealmente conectados dentro de una AOP. De esta forma el que un efecto sobre un evento intermedio progrese o no hacia la adversidad puede depender de la situación de otros eventos intermedios. Incluso en la evaluación de una única sustancia química, debemos considerar la posibilidad de que se induzcan varios mecanismos de toxicidad, y por ello la necesidad de considerar redes de AOPs conectadas; y la situación se complica más si consideramos exposiciones a múltiples sustancias químicas o a sustancias químicas junto con otros agentes nocivos.

El segundo aspecto es diferenciar si el mecanismo por el cual el organismo evita la progresión hacia el efecto adverso final es un mecanismo de recuperación o de compensación. Definiremos los mecanismos de recuperación como aquellos en los que el organismo es capaz de recuperar el control homeostático y volver a la situación previa a la de la exposición que generó la inducción del evento intermedio. Por ejemplo, si la exposición supone la inducción temporal en la expresión de un gen, que revierte sin que lleguen a modificarse los niveles de la proteína que codifica fuera de los rangos fisiológicos normales. En cuanto a la compensación, se refiere a situaciones en las que se produce una modificación de la condición fisiológica del órgano o del individuo, pero que se compensa gracias a adaptaciones fisiológicas o estructurales, de forma que finalmente se mantiene la función, pero el organismo no vuelve a la situación anterior a la exposición. En estas circunstancias aun cuando no podemos concluir que la exposición ha producido un efecto adverso “*senso stricto*”, sí que debemos reconocer que ha supuesto un incremento de la vulnerabilidad del individuo, afectando a su capacidad para responder a exposiciones futuras o a otras etiologías, con posibles consecuencias relacionadas con su estado sanitario.

El primer aspecto supone una modificación en la probabilidad de que el individuo desarrolle efectos adversos directos, y definen grupos de población especialmente vulnerables debido a limitaciones paralelas en las capacidades de recuperación ante inducciones de eventos intermedios. El segundo aspecto supone que la exposición a la sustancia química genere nuevas vulnerabilidades, como consecuencia de las modificaciones necesarias para la compensación de la inducción del evento intermedio para evitar su progresión. En ambos casos debemos considerar “posibilidades” en vez de “certezas” ya que dependen de que confluyan diferentes factores y la progresión hacia consecuencias medibles sobre la salud dependerá de muchos factores y situaciones de cada individuo, por lo que necesitamos metodologías de evaluación de riesgo más avanzadas que permitan consideraciones probabilísticas.

Por ello hemos propuesto el desarrollo de “Health Impact Pathways” como una extensión de las redes de AOPs (Pallarés Porcar et al., 2024). En nuestra propuesta, se añaden dos niveles para considerar también las consecuencias de efectos indirectos, uno de impacto sobre la salud de los individuos y otro para impactos sobre la salud de las poblaciones con implicaciones en salud pública. La propuesta es incluir, en estos niveles, elementos que puedan asociarse con indicadores de salud medibles, lo que permite establecer nexos con los estudios epidemiológicos. Además, los eventos intermedios no se presentan como líneas o redes de eventos individualizadas, sino que se agrupan sobre la base de sus posibles consecuencias para la salud, de forma que la progresión entre grupos de eventos pueda asociarse con un incremento en la probabilidad de que se afecten indicadores medibles de salud.

La Figura 16 incluye un ejemplo para contaminantes atmosféricos. Se propone un evento genérico a nivel molecular asociado a stress oxidativo y dos líneas de progresión paralelas, una que cubre los efectos directos sobre las estructuras pulmonares y la otra que cubre las consecuencias asociadas a la respuesta inmune, diferenciando las autoinmunes y las que suponen una reducción de defensas incrementando la susceptibilidad a enfermedades infecciosas.

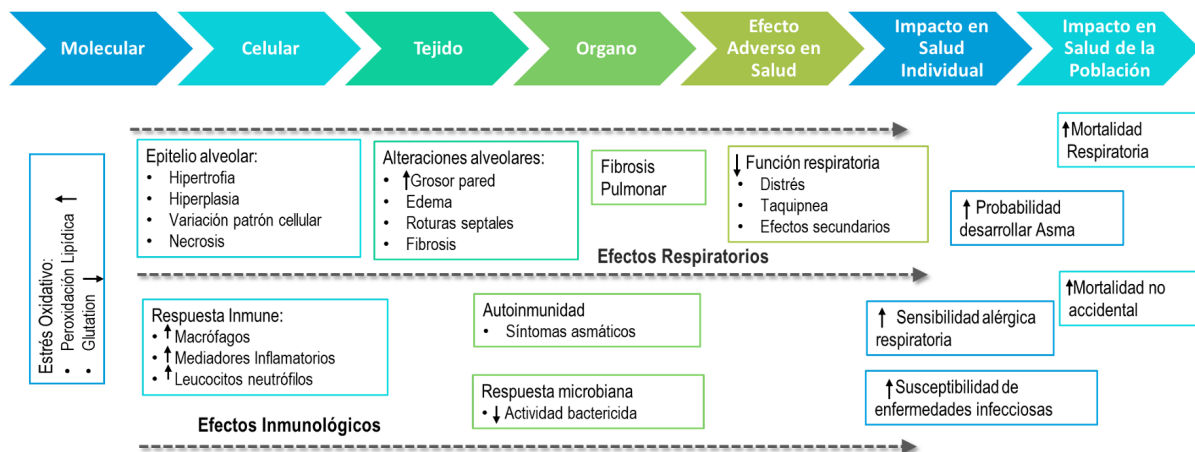


Figura 16. Esquema de HIP para contaminantes atmosféricos (adaptado de Pallarés-Porcar et al. 2024).

La idea es asociar cada uno de los bloques con una función probabilística que represente el “incremento esperado en la probabilidad de que la exposición afecte de forma directa o indirecta a indicadores medibles de salud” tales como la incidencia de mortalidad y enfermedades respiratorias, así como las del conjunto de indicadores de salud excluyendo los relacionados con accidentes. Para la implementación, se puede comenzar de forma conceptual, con estimaciones basadas en incrementos relativos entre bloques en función de la modificación fisiológica que representan; pero lo más destacable es que al extender el marco de las AOPs hasta impactos con indicadores medibles, se puede utilizar la evidencia disponible y los estudios epidemiológicos que utilizan dichos indicadores para calibrar y validar las propuestas.

7.6. Análisis de consecuencias sobre la salud y sanidad animal.

Las mismas consideraciones y propuestas presentadas para incluir información sobre los mecanismos y evaluación de las consecuencias para salud humana son aplicables a otras especies, y por tanto integrables desde el punto de vista de la salud animal. Conceptualmente nos interesa diferenciar especies domésticas del resto de especies animales, y considerar que en algunos casos los estudios se centran en la salud de los individuos, cuando cada individuo tiene gran valor social/sentimental (como es el caso de las mascotas), económico (como es el caso de animales selectos y de competición), o ecológico (como es el caso de especies en peligro de extinción); mientras que en otros casos nos interesa la salud colectiva de un grupo de animales.

Los modelos animales seleccionados para los estudios toxicológicos tradicionales se utilizan también en evaluaciones de riesgo de sustancias químicas en ámbitos como los medicamentos veterinarios o los aditivos y contaminantes en alimentos para animales. Tienen necesidades de extrapolación y limitaciones semejantes a las descritas para evaluaciones para la salud humana. En cuanto a la implementación de alternativas mecanicistas basadas en NAMs, las posibilidades y metodologías son también semejantes, pero la mayor diferencia es en su disponibilidad real, ya que la mayor parte de los desarrollos se centran en modelos humanos o relevantes para la evaluación de efectos en seres humanos con aproximaciones traslacionales. En principio las tecnologías son aplicables a otras especies animales, pero las posibilidades de financiación y por ello el número de desarrollos es mucho más limitado.

Un segundo aspecto de interés son las consideraciones no ya desde el punto de vista de la salud de los animales sino desde la sanidad animal. Dentro de esta evaluación tenemos dos consideraciones fundamentales relevantes desde el punto de vista de la evaluación de riesgos de sustancias químicas. La primera se refiere al

análisis de las consecuencias de los riesgos evaluados, en este caso además de los efectos sobre la salud de los animales expuestos, debemos considerar que esta situación conlleva consecuencias adicionales, por ejemplo, en el rendimiento productivo en el caso de las explotaciones ganaderas. Además, debemos considerar que cuando los problemas afectan a una colectividad, cualquier compromiso de la situación sanitaria a nivel colectivo puede servir de desencadenante para otros procesos, siendo de especial relevancia los que suponen un incremento en la susceptibilidad a enfermedades infecciosas incluyendo las zoonosis. Dada la dificultad de evaluar los procesos de inmunotoxicidad en las evaluaciones tradicionales, la utilización de NAMs puede proporcionar en el futuro herramientas muy relevantes. La segunda consideración se relaciona con las consecuencias de los medios utilizados para mantener la salud de los animales, y en relación con esta guía, nos interesan particularmente los riesgos ligados con la utilización de medicamentos veterinarios y productos biocidas, esenciales para mantener un nivel sanitario adecuado, pero que suponen un riesgo para las personas que conviven con los animales o que utilizan sus productos. En las evaluaciones de riesgos normativas se consideran estos aspectos, y para cada producto además de los riesgos para los animales en los que se va a utilizar, se realizan evaluaciones paralelas de los riesgos para los aplicadores del producto, las personas que conviven con los animales domésticos, y en el caso de los animales de abasto los consumidores de los alimentos de origen animal. Sin embargo, estas evaluaciones se realizan producto por producto, sin considerar que, a la hora de evaluar las posibles consecuencias, necesitamos agregar las exposiciones a la misma sustancia con diferentes usos, agrupar las consecuencias de grupos de sustancias con perfiles toxicológicos similares, y considerar los efectos combinados de la exposición simultánea y/o sucesiva a diferentes sustancias químicas. En este sentido, si seleccionamos una sustancia de amplio uso en sanidad animal como el piretroide deltametrina, nos encontramos con que en estos momentos hay autorizados en España más de 40 medicamentos veterinarios y más de 20 productos biocidas que tienen este piretroide, a los que debemos sumar más de 40 productos fitosanitarios. Para cada uno de ellos se ha realizado una evaluación de riesgos, pero no para la exposición agregada. En el siguiente paso, debemos agrupar al resto de piretroides, un grupo de más de treinta sustancias con estructuras químicas relacionadas y mecanismos de toxicológicos similares pero diferentes potencias. Y finalmente considerar la posible exposición a otras sustancias químicas con mecanismos de toxicidad relacionados. Para ello necesitamos nuevos marcos conceptuales para evaluar riesgos combinados, como el propuesto por Fernandez-Agudo y Tarazona (2025), que permite comparar NGRA basadas en NAMs con las evaluaciones tradicionales (Fernandez-Agudo and Tarazona, 2025).

7.7. Análisis de efectos sobre los ecosistemas

Dentro de las evaluaciones de riesgos ambientales, debemos distinguir las evaluaciones de riesgos para la salud humana debidas a exposiciones a través del medio ambiente y las evaluaciones que se centran en los efectos sobre los ecosistemas. El primer elemento diferencial, es que, en las primeras, como en todas las evaluaciones de salud humana, el nivel de protección se centra en el individuo, mientras que en las de los ecosistemas, en general el nivel de protección es sobre la “estructura y función” de los ecosistemas, por lo que pueden aceptarse efectos sobre individuos si no afectan a la población, o incluso efectos en las poblaciones si se recuperan sin afectar a las comunidades ni a las funciones/servicios de los ecosistemas.

Durante las últimas décadas se han desarrollado metodologías para estas evaluaciones ecológicas con diferentes niveles de complejidad (Tarazona and Ramos-Peralonso, 2024). En los niveles más avanzados y complejos contamos con sistemas experimentales que intentan medir directamente los efectos sobre las poblaciones o determinadas funciones, como es el caso de los mesocosmos (Hanson and Solomon, 2024; Van Den Brink et al., 2005) o de los estudios experimentales de (semi)campo. En este caso, contamos con

indicadores directos de los efectos sobre poblaciones/comunidades y sobre algunas de las funciones más relevantes, pero la dificultad estriba en que los efectos están asociados a las características del ecosistema estudiado y las condiciones ambientales durante el estudio. Por lo que cuando utilizamos estos estudios para intentar extrapolar las consecuencias a otros ecosistemas o situaciones, debemos considerar las similitudes y diferencias entre los diferentes componentes de los ecosistemas y su función. Por ejemplo, en un ecosistema acuático Mediterráneo con tendencia a la eutrofización, el zooplancton juega un papel fundamental para el control de la proliferación de algas, y un efecto sobre la comunidad de invertebrados, menor y rápidamente recuperable en otras condiciones, puede desencadenar un proceso de eutrofización irrecuperable en estas condiciones (López-Mancisidor et al., 2008).

En los niveles iniciales, más sencillos y más frecuentemente aplicados, se utilizan experimentos en especies seleccionadas realizados en el laboratorio bajo condiciones controladas óptimas para la especie; y se miden efectos sobre los individuos considerados relevantes a nivel población, como mortalidad, crecimiento y tasa de reproducción; en los que se basa la evaluación de efectos. Esta aproximación requiere tres tipos de extrapolaciones, entre especies, a poblaciones, y entre condiciones. La primera extrapolación es entre la sensibilidad de las especies en las que se han realizado los estudios y las especies que ven expuestas en condiciones naturales, esta extrapolación puede hacerse mediante factores estándar de extrapolación cuando el número de especies ensayadas es limitado, o mediante modelos de distribución de la sensibilidad entre especies cuando se dispone de un número suficiente de datos (Posthuma and de Zwart, 2024). La segunda extrapolación requiere transferir los efectos observados en los individuos a efectos sobre poblaciones, para lo que podemos utilizar modelos de simplificados de dinámica de poblaciones (Tarazona et al., 2021) calibrados con parámetros extraídos de los estudios de laboratorio (Ukbamichael et al., 2025). La tercera extrapolación es la más relevante pero también la más compleja, y requiere nuevos marcos conceptuales capaces de integrar la evolución espacial y temporal tanto en el análisis de la exposición como de los efectos y sus posibles consecuencias (Tarazona et al., 2024).

La utilización de NAMs mecanicistas en modelos *in vitro* como alternativa a los modelos animales supone en principio el tener que añadir un nuevo nivel de extrapolación; sin embargo, en la práctica ofrece la posibilidad de desarrollar un nuevo paradigma enfocado en los mecanismos, y su relevancia en diferentes especies. Se parte del principio de que existe un amplio nivel de conservación entre especies en cuanto a los mecanismos que regulan la interacción de las sustancias químicas con los procesos biológicos a nivel molecular, por lo que los ensayos sobre los eventos moleculares e iniciales dentro de una AOP son extrapolables a gran cantidad de especies. Sin embargo, el papel que desempeña un mecanismo concreto en la biología de cada especie puede ser diferente, así como sus consecuencias para la evolución de la dinámica de la población. La propuesta para un nuevo paradigma se basa en considerar los mecanismos moleculares y eventos iniciales que se ven afectados, y utilizar la información disponible sobre las diferentes especies para valorar aquellas especies más vulnerables a alteraciones de estos mecanismos, y en un segundo nivel, utilizar la información sobre la ecología de las especies para considerar su relevancia ecológica y las posibles consecuencias sobre la estructura de la comunidad ecológica y las funciones del ecosistema, de cara a identificar y priorizar los ecosistemas y condiciones ambientales más vulnerables. Esta aproximación además de un nuevo paradigma requiere metodologías de extracción y manejo masivo de información cualitativa, por lo que su implementación puede favorecerse mediante modelos de inteligencia artificial.

Conclusiones

Desde mediados de los años 1950s, las metodologías de evaluación de riesgos de sustancias químicas se han ido desarrollando y perfeccionando, debido fundamentalmente a su utilización en el marco normativo. De forma progresiva se han ido extendiendo a diferentes sectores, han dado un salto para cubrir riesgos ambientales, y ampliado con el desarrollo de nuevos escenarios, modelos, y metodologías de alto nivel incluyendo modelos probabilísticos y otros que permiten considerar la variabilidad espaciotemporal en exposiciones y efectos.

Los desarrollos normativos se basan en avances científicos, y las guías de evaluación de riesgos tanto para la salud como para el medio ambiente publicadas por diferentes agencias e instituciones, representan excelentes ejemplos de cómo incorporar los desarrollos científicos en procesos normativos ligados a la Salud Pública y Ambiental. Al mismo tiempo, todos estos desarrollos se han ido utilizado como base en evaluaciones no normativas, y es muy frecuente ver como modelos y valores guía normativos se utilizan en estudios científicos.

Más recientemente, con el desarrollo de nuevas aproximaciones toxicológicas, que facilitan la comprensión de los mecanismos que explican la interacción de las sustancias químicas con las estructuras biológicas, han ido surgiendo aproximaciones “mecanicistas” y con ellas la necesidad de un nuevo paradigma. El desarrollo científico, sobre todo en sanidad humana para desarrollar modelos más relevantes que los animales de experimentación, va en paralelo con las consideraciones éticas para reducir y finalmente eliminar la necesidad de utilizar animales de experimentación para realizar estas evaluaciones. La combinación de ambos elementos ha supuesto el desarrollo de nuevos paradigmas y de una nueva generación de metodologías para la evaluación de riesgo.

Un segundo grupo de nuevos desarrollos son los ligados a la integración. Por su naturaleza intrínseca los protocolos normativos se centran en apoyar tomas de decisiones concretas centradas en el nivel de riesgo “aceptable” para la aprobación de un determinado producto y sus condiciones de uso; mientras que, en los estudios más generales de salud pública y ambiental, nos interesan evaluaciones más holísticas, que incluyan también las consecuencias de los impactos directos e indirectos sobre la salud de las personas, los animales y los ecosistemas.

Para ello, el primer punto es ampliar las herramientas de evaluación de riesgos para poder evaluar los riesgos del conjunto de sustancias a las que estamos expuestos, y el segundo es integrar los riesgos para diferentes receptores, y utilizarlos para evaluar los impactos esperados y sus consecuencias para la salud, integrando las evaluaciones con aproximaciones conceptuales de One Health y de desarrollo sostenible.

Ambos puntos están en plena expansión, ofreciendo metodologías que podemos incorporar en el diseño de nuestros estudios y proyectos de investigación en sanidad ambiental.

8. Referencias bibliográficas

- Adler, S., Basketter, D., Creton, S., Pelkonen, O., Van Benthem, J., Zuang, V., Andersen, K.E., Angers-Loustau, A., Aptula, A., Bal-Price, A., Benfenati, E., Bernauer, U., Bessems, J., Bois, F.Y., Boobis, A., Brandon, E., Bremer, S., Broschard, T., Casati, S., Coecke, S., Corvi, R., Cronin, M., Daston, G., Dekant, W., Felter, S., Grignard, E., Gundert-Remy, U., Heinonen, T., Kimber, I., Kleinjans, J., Komulainen, H., Kreiling, R., Kreysa, J., Leite, S.B., Loizou, G., Maxwell, G., Mazzatorta, P., Munn, S., Pfuhler, S., Phrakonkham, P., Piersma, A., Poth, A., Prieto, P., Repetto, G., Rogiers, V., Schoeters, G., Schwarz, M., Serafimova, R., Tähti, H., Testai, E., Van Delft, J., Van Loveren, H., Vinken, M., Worth, A., Zaldivar, J.M., 2011. Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: Current status and future prospects-2010. *Arch. Toxicol.* <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0693-2>
- Anadón, A., Bridges, J., Tarazona, J. V., 2025. Sustainability of medicines and biocides. A One Health approach. *Environ. Int.* 203. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2025.109768>
- Au, W.W., Oh, H.Y., Grady, J., Salama, S.A., Heo, M.Y., 2001. Usefulness of genetic susceptibility and biomarkers for evaluation of environmental health risk. *Environ. Mol. Mutagen.* 37, 215–225. <https://doi.org/10.1002/EM.1030>
- Bajard, L., Adamovsky, O., Audouze, K., Baken, K., Barouki, R., Beltman, J.B., Beronius, A., Bonefeld-Jørgensen, E.C., Cano-Sancho, G., de Baat, M.L., Di Tillio, F., Fernández, M.F., FitzGerald, R.E., Gundacker, C., Hernández, A.F., Hilscherova, K., Karakitsios, S., Kuchovska, E., Long, M., Luijten, M., Majid, S., Marx-Stoelting, P., Mustieles, V., Negi, C.K., Sarigiannis, D., Scholz, S., Sovadinova, I., Stierum, R., Tanabe, S., Tollefsen, K.E., van den Brand, A.D., Vogs, C., Wielsøe, M., Wittwehr, C., Blaha, L., 2023. Application of AOPs to assist regulatory assessment of chemical risks – Case studies, needs and recommendations. *Environ. Res.* <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114650>
- Ball, N., 2016. Toward Good Read-Across Practice (GRAP) guidance SUPPL. *ALTEX* 1–6. <https://doi.org/10.14573/altex.1601251s>
- Barrio-Parra, F., Izquierdo-Díaz, M., Dominguez-Castillo, A., Medina, R., De Miguel, E., 2019. Human-health probabilistic risk assessment: the role of exposure factors in an urban garden scenario. *Landsc. Urban Plan.* 185, 191–199. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2019.02.005>
- Bearth, A., Roth, N., Jansen, T., Holden, L., Čavoški, A., Di Consiglio, E., Hauzenberger, I., Lee, R., Mombelli, E., Tcheremenskaia, O., Wendt-Rasch, L., Wilks, M.F., 2025. New approach methodologies in human health risk assessment across European regulatory frameworks: Status quo, barriers and drivers for regulatory acceptance and use. *Environ. Int.* 196. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2025.109279>
- Belfield, S.J., Cronin, M.T.D., Enoch, S.J., Firman, J.W., 2023. Guidance for good practice in the application of machine learning in development of toxicological quantitative structure-activity relationships (QSARs). *PLoS One* 18, e0282924. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282924>
- Bennekou, S.H., Allende, A., Bearth, A., Casacuberta, J., Castle, L., Coja, T., Crépet, A., Halldorsson, T., Hoogenboom, L., Knutsen, H., Lambré, C., Nielsen, S., Turck, D., Civera, A.V., Villa, R., Jokelainen, P., Zorn, H., Benford, D., Fitzgerald, R., Meek, B., Mortensen, A., Sand, S., Testai, E., Manini, P., Paini, A., Schrenk, D., 2025. Statement on the use and interpretation of the margin of exposure approach. *EFSA Journal* 23, e9606. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2025.9606>

- Berggren, E., Amcoff, P., Benigni, R., Blackburn, K., Carney, E., Cronin, M., Deluyker, H., Gautier, F., Judson, R.S., Kass, G.E.N., Keller, D., Knight, D., Lilienblum, W., Mahony, C., Rusyn, I., Schultz, T., Schwarz, M., Schüürmann, G., White, A., Burton, J., Lostia, A.M., Munn, S., Worth, A., 2015. Chemical safety assessment using read-across: Assessing the use of novel testing methods to strengthen the evidence base for decision making. *Environ. Health Perspect.* <https://doi.org/10.1289/ehp.1409342>
- Bernhardt, E.S., Rosi, E.J., Gessner, M.O., 2017. Synthetic chemicals as agents of global change. *Front. Ecol. Environ.* 15, 84–90. <https://doi.org/10.1002/FEE.1450>
- Bloomingdale, P., Housand, C., Apgar, J.F., Millard, B.L., Mager, D.E., Burke, J.M., Shah, D.K., 2017. Quantitative systems toxicology. *Curr. Opin. Toxicol.* 4, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.07.003>
- Broomandi, P., Rodríguez-Seijo, A., Janatian, N., Fathian, A., Tleuken, A., Mohammadpour, K., Galán-Madruga, D., Jahanbakhshi, A., Kim, J.R., Satyanaga, A., Bagheri, M., Morawska, L., 2023. Health risk assessment of the European inhabitants exposed to contaminated ambient particulate matter by potentially toxic elements. *Environmental Pollution* 323, 121232. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2023.121232>
- Bro-Rasmussen F., Calow, P., Canton J.H., Chambers P.L., Fernandes, A.S., Hoffmann, L., Jouany, J.M., Klein, W., Persoone, G., Scoullou, M., Tarazona, J.V., Vighi, M., 1994. EEC Water Quality Objectives for Chemicals Dangerous to Aquatic Environments (List 1). The Ecotoxicity Section of CSTE/EEC, Comité Scientifique consultatif pour l'examen de la Toxicité et de l'Écotoxicité des substances chimique of the European Commission. *Reviews on Environmental Contamination and Toxicology* 137.
- Bruce, E.D., Abusalih, A.A., McDonald, T.J., Autenrieth, R.L., 2007. Comparing deterministic and probabilistic risk assessments for sites contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 42, 697–706. <https://doi.org/10.1080/10934520701304328>
- Caminade, C., McIntyre, K.M., Jones, A.E., 2019. Impact of recent and future climate change on vector-borne diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* <https://doi.org/10.1111/nyas.13950>
- Canzler, S., Schor, J., Busch, W., Schubert, K., Rolle-Kampczyk, U.E., Seitz, H., Kamp, H., von Bergen, M., Buesen, R., Hackermüller, J., 2020. Prospects and challenges of multi-omics data integration in toxicology. *Arch. Toxicol.* <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02656-y>
- Cao, H., Suzuki, N., Sakurai, T., Matsuzaki, K., Shiraishi, H., Morita, M., 2007. Probabilistic estimation of dietary exposure of the general Japanese population to dioxins in fish, using region-specific fish monitoring data. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* 2008 18:3 18, 236–245. <https://doi.org/10.1038/sj.jes.7500608>
- Charistou, A., Coja, T., Craig, P., Hamey, P., Martin, S., Sanvido, O., Chiusolo, A., Colas, M., Istace, F., 2022. Guidance on the assessment of exposure of operators, workers, residents and bystanders in risk assessment of plant protection products. *EFSA Journal* 20, e07032. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7032>
- Chiu, W.A., Slob, W., 2015. A Unified Probabilistic Framework for Dose-Response Assessment of Human Health Effects. *Environ. Health Perspect.* 123, 1241–1254. <https://doi.org/10.1289/EHP.1409385>

- Comisión Europea, 2025. Corrigendum 1 & 2 Scientific Committee on Health, Environmental and Emerging Risks SCHEER Memorandum on Weight of Evidence approach for Risk Assessment Revision 2024. <https://doi.org/10.2875/2921275>
- Comisión Europea. (2023). Reglamento (UE) 2023/915 de la Comisión, de 25 de abril de 2023, relativo a los límites máximos de determinados contaminantes en los alimentos y por el que se deroga el Reglamento (CE) n.º 1881/2006. Diario Oficial de la Unión Europea, L 119, 5 de mayo de 2023, pp. 103–157.
- Coronel, R., González-Sastre, R., Mateos-Martínez, P., Maeso, L., Llorente-Beneyto, E., Martín-Benito, S., Costa Gagosian, V.S., Foti, L., González-Caballero, M.C., López-Alonso, V., Liste, I., 2026. Human cerebral organoids: Complex, versatile, and human-relevant models of neural development and brain diseases. *Neural Regen. Res.* 21, 837–854. <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-24-01639>
- Crépet, A., Luong, T.M., Baines, J., Boon, P.E., Ennis, J., Kennedy, M., Massarelli, I., Miller, D., Nako, S., Reuss, R., Yoon, H.J., Verger, P., 2021. An international probabilistic risk assessment of acute dietary exposure to pesticide residues in relation to codex maximum residue limits for pesticides in food. *Food Control* 121, 107563. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2020.107563>
- Crystal Ball, 2025. Oracle Crystal Ball Downloads | Oracle España [WWW Document]. URL <https://www.oracle.com/es/middleware/technologies/crystalball/downloads.html> (accessed 1.9.26).
- CSTEE, 2004. OPINION OF THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON TOXICITY, ECOTOXICITY AND THE ENVIRONMENT (CSTEE) ON "The Setting of Environmental Quality Standards for the Priority Substances included in Annex X of Directive 2000/60/EC in Accordance with Article 16 thereof".
- Dai, X., Shen, L., 2022. Advances and Trends in Omics Technology Development. *Front. Med. (Lausanne)*. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.911861>
- de Alba-Gonzalez, M., González-Caballero, M.C., Tarazona, J. V., 2024. Applicability of Food Monitoring Data for Assessing Relative Exposure Contributions of Pyrethroids in Retrospective Human Biomonitoring Risk Estimations. *Toxics* 12. <https://doi.org/10.3390/toxics12010024>
- de Alba-Gonzalez, M., González-Caballero, M.C., Tarazona, J. V., 2023. Applicability of Food Monitoring Data for Assessing Relative Exposure Contributions of Pyrethroids in Retrospective Human Biomonitoring Risk Estimations. *Toxics* 12. <https://doi.org/10.3390/TOXICS12010024>
- Dent, M., Amaral, R.T., Da Silva, P.A., Ansell, J., Boisleve, F., Hatao, M., Hirose, A., Kasai, Y., Kern, P., Kreiling, R., Milstein, S., Montemayor, B., Oliveira, J., Richarz, A., Taalman, R., Vaillancourt, E., Verma, R., Posada, N.V.O.R.C., Weiss, C., Kojima, H., 2018. Principles underpinning the use of new methodologies in the risk assessment of cosmetic ingredients. *Computational Toxicology* 7, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2018.06.001>
- Dent, M.P., Vaillancourt, E., Thomas, R.S., Carmichael, P.L., Ouedraogo, G., Kojima, H., Barroso, J., Ansell, J., Barton-Maclaren, T.S., Bennekou, S.H., Boekelheide, K., Ezendam, J., Field, J., Fitzpatrick, S., Hatao, M., Kreiling, R., Lorencini, M., Mahony, C., Montemayor, B., Mazaro-Costa, R., Oliveira, J., Rogiers, V., Smegal, D., Taalman, R., Tokura, Y., Verma, R., Willett, C., Yang, C., 2021. Paving the way for application of next generation risk assessment to safety decision-making for cosmetic ingredients. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 125. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2021.105026>

- Destoumieux-Garzón, D., Mavingui, P., Boetsch, G., Boissier, J., Darriet, F., Duboz, P., Fritsch, C., Giraudoux, P., Roux, F. Le, Morand, S., Paillard, C., Pontier, D., Sueur, C., Voituron, Y., 2018. The one health concept: 10 years old and a long road ahead. *Front. Vet. Sci.* <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00014>
- De Vleeschauwer, S.I., van de Ven, M., Oudin, A., Debusschere, K., Connor, K., Byrne, A.T., Ram, D., Rhebergen, A.M., Raeves, Y.D., Dahlhoff, M., Dangles-Marie, V., Hermans, E.R., 2024. OBSERVE: guidelines for the refinement of rodent cancer models. *Nat. Protoc.* 19, 2571–2596. <https://doi.org/10.1038/s41596-024-00998-w>
- DG Environment. (2018). Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards. Guidance Document No. 27. Technical Report - 2018. Luxemburgo: Oficina de Publicaciones de la Unión Europea.
- ECETOC AISBL, 2010. Guidance on Assessment Factors to Derive a DNEL. Technical Report No. 110. Brussels: ECETOC AISB.
- ECHA, 2025. Guidance on the Biocidal Products Regulation . Volume III, Human health, assessment and evaluation (Parts B+C) : version 5.0, August 2025. European Chemicals Agency. <https://data.europa.eu/doi/10.2823/5976476>.
- ECHA, 2017. Read-Across Assessment Framework (RAAF), European Chemicals Agency, 2017, <https://data.europa.eu/doi/10.2823/619212>
- ECHA, 2014. The use of alternatives to testing on animals for the REACH Regulation: second report under Article 117(3) of the REACH Regulation. European Chemicals Agency.
- ECHA, 2012. Guidance on information requirements and chemical safety assessment.
- EEA, 2013. Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation (flyer). European Environment Agency. Available at: <https://www.eea.europa.eu/en/analysis/publications/late-lessons-2-flyer> (accessed 19 Dec 2025).
- EFSA (European Food Safety Authority), Charistou A, Coja T, Craig P, Hamey P, Martin S, Sanvido O, Chiusolo A, Colas M and Istace F, 2022. Guidance on the assessment of exposure of operators, workers, residents and bystanders in risk assessment of plant protection products. *EFSA Journal* 2022;20(1):7032, 134 pp.
- EFSA, 2005. Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to A Harmonised Approach for Risk Assessment of Substances Which are both Genotoxic and Carcinogenic. *EFSA Journal* 3. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2005.282>
- EFSA CONTAM Panel, Schrenk, D., Bignami, M., Bodin, L., Chipman, J.K., del Mazo, J., Grasl-Kraupp, B., Hogstrand, C., Hoogenboom, L. (Ron), Leblanc, J.-C., Nebbia, C.S., Nielsen, E., Ntzani, E., Petersen, A., Sand, S., Vleminckx, C., Wallace, H., Barregård, L., Ceccatelli, S., Cravedi, J.-P., Halldorsson, T.I., Haug, L.S., Johansson, N., Knutsen, H.K., Rose, M., Roudot, A.-C., Van Loveren, H., Vollmer, G., Mackay, K., Riolo, F., Schwerdtle, T., 2020. Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food. *EFSA Journal* 18, e06223. <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6223>
- EFSA Scientific Committee, 2016. Guidance to develop specific protection goals options for environmental risk assessment at EFSA, in relation to biodiversity and ecosystem services. *EFSA Journal* 14, e04499. <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4499>

- EFSA Scientific Committee, Bennekou, S.H., Allende, A., Bearth, A., Casacuberta, J., Castle, L., Coja, T., Crépet, A., Halldorsson, T., Hoogenboom, L., Jokelainen, P., Knutsen, H., Koutsoumanis, K., Lambré, C., Nielsen, S., Turck, D., Civera, A.V., Villa, R.E., Zorn, H., Benfenati, E., Benigni, R., Chaudhry, Q., Farcas, L., Kass, G., Nathanail, A., Paini, A., Serafimova, R., 2025. Guidance on the use of read-across for chemical safety assessment in food and feed. *EFSA Journal* 23. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2025.9586>
- EFSA Scientific Committee, More, S.J., Bampidis, V., Benford, D., Bragard, C., Halldorsson, T.I., Hernández-Jerez, A.F., Bennekou, S.H., Koutsoumanis, K., Lambré, C., Machera, K., Mullins, E., Nielsen, S.S., Schlatter, J.R., Schrenk, D., Turck, D., Younes, M., Boon, P., Ferns, G.A.A., Lindtner, O., Smolders, E., Wilks, M., Bastaki, M., de Sesmaisons-Lecarré, A., Ferreira, L., Greco, L., Kass, G.E.N., Riolo, F., Leblanc, J.-C., 2023. Re-evaluation of the existing health-based guidance values for copper and exposure assessment from all sources. *EFSA Journal* 21, e07728. <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7728>
- EMA, 2025a. EMA Regulatory Science to 2025 Strategic Reflection. European Medicines Agency.
- EMA, 2025b. New Approach Methodologies EU-IN Horizon Scanning Report. European Medicines Agency.
- EMA, 2023. Concept paper on the revision of the Guideline on the principles of regulatory acceptance of 3Rs (replacement, reduction, refinement) testing approaches (EMA/CHMP/CVMP/JEG-3Rs/450091/2021). European Medicines Agency.
- EMA, 2018. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) reflection paper providing an overview of the current regulatory testing requirements for medicinal products for human use and opportunities for implementation of the 3Rs. European Medicines Agency.
- EMA, 2016. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP); Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP). Guideline on the principles of regulatory acceptance of 3Rs (replacement, reduction, refinement) testing approaches. European Medicines Agency.
- EPA, 2019. List of alternative test methods and strategies (or New Approach Methodologies [NAMs]). U.S. Environmental Protection Agency.
- EPA, 2018. Strategic plan to promote the development and implementation of alternative test methods within the TSCA program. U.S. Environmental Protection Agency.
- EPA, 2005. Guidelines for carcinogen risk assessment. U.S. Environmental Protection Agency.
- Ernyasih, E., Mallongi, A., Daud, A., Palutturi, S., Stang, S., Thaha, R., Ibrahim, E., Al Madhoun, W., 2023. Health risk assessment through probabilistic sensitivity analysis of carbon monoxide and fine particulate transportation exposure. *Global Journal of Environmental Science and Management* 9, 933–950. <https://doi.org/10.22034/GJESM.2023.04.18>
- Escher, S.E., Partosch, F., Konzok, S., Jennings, P., Luijten, M., Kienhuis, A., de Leeuw, V., Reuss, R., Lindemann, K., Bennekou, S.H., 2022. Development of a Roadmap for Action on New Approach Methodologies in Risk Assessment. *EFSA Supporting Publications* 19. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2022.en-7341>
- Esteban-López, M., Arrebola, J.P., Juliá, M., Pärt, P., Soto, E., Cañas, A., Pedraza-Díaz, S., González-Rubio, J., Castaño, A., 2022. Selecting the best non-invasive matrix to measure mercury exposure in human biomonitoring surveys. *Environ. Res.* 204. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112394>

- Esteban, M., Castaño, A., 2009. Non-invasive matrices in human biomonitoring: a review. *Environ. Int.* 35, 438–449. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2008.09.003>
- European Commission, 2006. Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH). EUR-Lex. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=CELEX:32006R1907> (accessed 19 Dec 2025).
- Euser, A.M., Zoccali, C., Jager, K.J., Dekker, F.W., 2009. Cohort studies: prospective versus retrospective. *Nephron Clin. Pract.* 113. <https://doi.org/10.1159/000235241>
- FDA, 2025. Roadmap to Reducing Animal Testing in Preclinical Safety Studies, ATLA Alternatives to Laboratory Animals.
- Felisbino, K., Milhorini, S. da S., Kirsten, N., Bernert, K., Schiessl, R., Guiloski, I.C., 2024. Exposure to pesticides during pregnancy and the risk of neural tube defects: A systematic review. *Science of The Total Environment* 913, 169317. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.169317>
- Fernandez-Agudo, A., Tarazona, J. V, 2025. A tiered next-generation risk assessment framework integrating toxicokinetics and NAM-based toxicodynamics: “proof of concept” case study using pyrethroids. *Arch. Toxicol.* 99, 2759–2781. <https://doi.org/10.1007/s00204-025-04045-9>
- Fernández-Martín, M.E., Tarazona, J. V., 2025. Next Generation Risk Assessment to Address Disease-Related Vulnerability—A Proof of Concept for the Sunscreen Octocrylene. *Toxics* 13. <https://doi.org/10.3390/toxics13020110>
- Ferreira, I., Brites, G., Silva, A., Caramelo, F., Oliveiros, B., Neves, B.M., Cruz, M.T., 2023. Development of an in chemico high-throughput screening method for the identification of skin sensitization potential. *Arch. Toxicol.* 97, 2441–2451. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03550-z>
- Flinders, C., Barnhart, B., Morrison, E.B., Anderson, P.D., Landis, W.G., 2025. Probabilistic approaches for risk assessment and regulatory criteria development: current applications, gaps, and opportunities. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 21, 1281–1292. <https://doi.org/10.1093/INTEAM/VJAF016>
- Frank, E.G., Sudarshan, A., Gafanova, A., Jayant, A., Karla, S., Kudalkar, S., Zhang, Y., 2023. The Social Costs of Keystone Species Collapse: Evidence From The Decline of Vultures in India The Social Costs of Keystone Species Collapse: Evidence From The Decline of Vultures in India *.
- Fujiki, M., Tajima, S., 1992. The Pollution of Minamata Bay by Mercury. *Water Science and Technology* 25, 133–140. <https://doi.org/10.2166/WST.1992.0284>
- Galán-Madruga, D., Cárdenas-Escudero, J., Broomandi, P., Cáceres, J.O., González, M.D.C., 2023. Evaluating urban indoor and outdoor PM10-bound organochlorine pesticides. Air quality status and health impact. *Build. Environ.* 228, 109818. <https://doi.org/10.1016/J.BUILDENV.2022.109818>
- García-Camero, J.P., Corpa, C., Lucena, M.A., Méndez, P., Sierra, P., Galán-Madruga, D., Aguayo, S., 2021. Presence of diclofenac, estradiol, and ethinylestradiol in Manzanares River (Spain) and their toxicity to zebrafish embryo development. *Environmental Science and Pollution Research* 2021 28:36 28, 49921–49935. <https://doi.org/10.1007/S11356-021-14167-Z>
- Gibbs, E.P.J., 2014. The evolution of one health: A decade of progress and challenges for the future. *Veterinary Record* 174, 85–91. <https://doi.org/10.1136/vr.g143>
- Gilbert, S.G., 2004. A Small Dose of Toxicology : The Health Effects of Common Chemicals. A Small Dose of Toxicology. <https://doi.org/10.1201/9780203461730>

- Giovannucci, E., Stampfer, M.J., Colditz, G.A., Manson, J.E., Rosner, B.A., Longnecker, M., Speizer, F.E., Willett, W.C., 1993. A comparison of prospective and retrospective assessments of diet in the study of breast cancer. *Am. J. Epidemiol.* 137, 502–511. <https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.AJE.A116703>
- Govarts, E., Gilles, L., Rodriguez-Martin, L., Santonen, T., Apel, P., Alvito, P.C., Anastasi, E., Raun Andersen, H.R., Andersson, A.M., Andrysková, L., Antignac, J.P., Appenzeller, B.M.R., Barbone, F., Barnett-Itzhaki, Z., Barouki, R., Berman, T., Bil, W., Borges, T., Buekers, J., Cañas Portilla, A.I., Covaci, A., Csákó, Z., den Hond, E.M., Dvorakova, D., Fábelová, L., Fletcher, T., Frederiksen, H., Gabriel, C., Ganzleben, C., Göen, T., Halldórsson, T.I., Smastuen Haug, L.S., Horvat, M., Huuskonen, P., Imboden, M., Jagodic Hudobivnik, M., Janasik, B.M., Janev-Holcer, N., Karakitsios, S.P., Katsonouri, A., Klánová, J., Kokaraki, V., Kold-Jensen, T., Koponen, J., Laeremans, M., Laguzzi, F., Lange, R., Lemke, N., Lignell, S., Lindroos, A.K., Lobo Vicente, J., Luijten, M., Makris, K.C., Mazej, D., Melymuk, L., Meslin, M., Mol, H.G.J., Montazeri, P., Murawski, A., Namorado, S., Niemann, L., Nübler, S., Nunes, B., Olafsdóttir, K., Palkovicova Murinova, L., Papaioannou, N., Pedraza-Díaz, S., Piler, P., Plichta, V., Poteser, M., Probst-Hensch, N.M., Rambaud, L., Rauscher-Gabernig, E., Rausová, K., Remy, S., Riou, M., Rosolen, V., Rousselle, C., Rütther, M., Sarigiannis, D.A.A., Silva, M.J., Šlejkovec, Z., Snoj-Tratnik, J., Stajniko, A., Szigeti, T., Tarazona, J. V., Thomsen, C., Tkalec, Ž., Tolonen, H.K., Trnovec, T., Uhl, M., van Nieuwenhuyse, A., Vasco, E.R., Verheyen, V.J., Viegas, S., Vinggaard, A.M., Vogel, N., Vorkamp, K., Wa, sowicz, W., Weber, T., Wimmerová, S., Woutersen, M., Zimmermann, P., Zvonar, M., Koch, H.M., Kolossa-Gehring, M., Esteban-López, M., Castaño, A., Stewart, L., Sepai, O., Schoeters, G.E.R., 2023. Harmonized human biomonitoring in European children, teenagers and adults: EU-wide exposure data of 11 chemical substance groups from the HBM4EU Aligned Studies (2014–2021). *Int. J. Hyg. Environ. Health* 249. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2023.114119>
- Grandjean, P., Landrigan, P.J., 2014. Neurobehavioural effects of developmental toxicity. *Lancet Neurol.* 13, 330–338. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70278-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70278-3)
- Green, R.E., Newton, I., Shultz, S., Cunningham, A.A., Gilbert, M., Pain, D.J., Prakash, V., 2004. Diclofenac poisoning as a cause of vulture population declines across the Indian subcontinent. *Journal of Applied Ecology* 41, 793–800. <https://doi.org/10.1111/j.0021-8901.2004.00954.x>
- Hanson, M., Solomon, K.R., 2024. Mesocosms and microcosms (aquatic), in: Wexler, P. (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology (Fourth Edition)*. Academic Press, Oxford, pp. 155–159. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00938-6>
- Hardy, A., Benford, D., Halldorsson, T., Jeger, M.J., Knutsen, H.K., More, S., Naegeli, H., Noteborn, H., Ockleford, C., Ricci, A., Rychen, G., Schlatter, J.R., Silano, V., Solecki, R., Turck, D., Benfenati, E., Chaudhry, Q.M., Craig, P., Frampton, G., Greiner, M., Hart, A., Hogstrand, C., Lambre, C., Luttk, R., Makowski, D., Siani, A., Wahlstroem, H., Aguilera, J., Dorne, J., Fernandez Dumont, A., Hempen, M., Valtueña Martínez, S., Martino, L., Smeraldi, C., Terron, A., Georgiadis, N., Younes, M., 2017a. Guidance on the use of the weight of evidence approach in scientific assessments. *EFSA Journal* 15, e04971. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4971>
- Hardy, A., Benford, D., Halldorsson, T., John Jeger, M., Helle Knutsen, K., More, S., Mortensen, A., Naegeli, H., Noteborn, H., Ockleford, C., Ricci, A., Rychen, G., Silano, V., Solecki, R., Turck, D., Aerts, M., Bodin, L., Davis, A., Edler, L., Gundert-Remy, U., Sand, S., Slob, W., Bottex, B., Corti, J., Abrahantes, nas, Court Marques, D., Kass, G., Schlatter, J.R., 2017b. Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA Journal* 15, e04658. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4658>

- Harrill, J.A., Viant, M.R., Yauk, C.L., Sachana, M., Gant, T.W., Auerbach, S.S., Beger, R.D., Bouhifd, M., O'Brien, J., Burgoon, L., Caiment, F., Carpi, D., Chen, T., Chorley, B.N., Colbourne, J., Corvi, R., Debrauwer, L., O'Donovan, C., Ebbels, T.M.D., Ekman, D.R., Faulhammer, F., Gribaldo, L., Hilton, G.M., Jones, S.P., Kende, A., Lawson, T.N., Leite, S.B., Leonards, P.E.G., Luijten, M., Martin, A., Moussa, L., Rudaz, S., Schmitz, O., Sobanski, T., Strauss, V., Vaccari, M., Vijay, V., Weber, R.J.M., Williams, A.J., Williams, A., Thomas, R.S., Whelan, M., 2021. Progress towards an OECD reporting framework for transcriptomics and metabolomics in regulatory toxicology. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2021.105020>
- Harrison, R.L., 2010. Introduction to Monte Carlo Simulation. *AIP Conf. Proc.* 1204, 17–21. <https://doi.org/10.1063/1.3295638>
- Hartung, T., 2008. Food for thought ... on alternative methods for cosmetics safety testing. *ALTEX* 25(3), 147–162. <https://doi.org/10.14573/altex.2008.3.147>.
- Heo, G., Baek, S., Kwon, D., Kim, H., Park, J., 2021. Recent research towards integrated deterministic-probabilistic safety assessment in Korea. *Nuclear Engineering and Technology* 53, 3465–3473. <https://doi.org/10.1016/J.NET.2021.05.015>
- Hernández-Blanco, M., Costanza, R., Chen, H., deGroot, D., Jarvis, D., Kubiszewski, I., Montoya, J., Sangha, K., Stoeckl, N., Turner, K., van 't Hoff, V., 2022. Ecosystem health, ecosystem services, and the well-being of humans and the rest of nature. *Glob. Chang. Biol.* 28, 5027–5040. <https://doi.org/10.1111/gcb.16281>
- Hope, B.K., 2000. Generating probabilistic spatially-explicit individual and population exposure estimates for ecological risk assessments. *Risk Analysis* 20, 573–590. <https://doi.org/10.1111/0272-4332.205053;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER>
- ICCVAM, 2024. Validation, Qualification, and Regulatory Acceptance of New Approach Methodologies. 111 TW Alexander Dr, Durham, NC 27709. <https://doi.org/10.22427/NICEATM-2>
- IFRA, 2024. New Approach Methodologies (NAMs) | IFRA [WWW Document]. URL <https://ifrafragrance.org/initiatives-positions/safe-use-fragrance-science/new-alternatve-methodologies-nams> (accessed 3.3.26).
- Iglesias-Hernandez, P., Tarazona, J.V., Manosalva, J., Megias, D., Docando, F., Cañas-Portilla, A.I., Torres-Ruiz, M., De la Vieja, A., 2025. Impact of nanoplastics on thyroid function: Unraveling cellular biokinetics, molecular mechanisms and human risk assessment. *J. Hazard. Mater.* 498. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.139890>
- IPCC, 2023. Climate Change 2022 – Impacts, Adaptation and Vulnerability, Climate Change 2022 – Impacts, Adaptation and Vulnerability. <https://doi.org/10.1017/9781009325844>
- IPCS, 2004. International Programme on Chemical Safety Risk assessment terminology 117.
- Iribarren, I., Chacón, E., De Miguel, E., 2008. A Bayesian Approach to Probabilistic Risk Assessment in Municipal Playgrounds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 2008 56:1 56, 165–172. <https://doi.org/10.1007/S00244-008-9161-2>
- Jager, T., Vermeire, T.G., Rikken, M.G.J., Van der Poel, P., 2001. Opportunities for a probabilistic risk assessment of chemicals in the European Union. *Chemosphere* 43, 257–264. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00087-4](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00087-4)

- Johanson, G., Moto, T.P., Schenk, L., 2023. A scoping review of evaluations of and recommendations for default uncertainty factors in human health risk assessment. *J. Appl. Toxicol.* 43, 186–194. <https://doi.org/10.1002/jat.4386>
- Jones, H.M., Rowland-Yeo, K., 2013. Basic concepts in physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 2. <https://doi.org/10.1038/psp.2013.41>
- JRC, 2025. Non-animal methods in science and regulation. European Commission Joint Research Centre. <https://doi.org/10.2760/6735899>
- KEMI, 2020. Evaluación de peligros y riesgos de las sustancias químicas: una introducción. Swedish Chemicals Agency.
- Khalid, M., 2023. Monte Carlo analysis for probabilistic risk assessment. *Encyclopedia of Toxicology, Fourth Edition: Volume 1-9 6, V6-517-V6-522.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00109-3>
- Kleinstreuer, N.C., Sullivan, K., Allen, D., Edwards, S., Mendrick, D.L., Embry, M., Matheson, J., Rowlands, J.C., Munn, S., Maull, E., Casey, W., 2016. Adverse outcome pathways: From research to regulation scientific workshop report. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 76, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.01.007>
- Krewski, D., Acosta, D., Andersen, M., Anderson, H., Bailar, J.C., Boekelheide, K., Brent, R., Charnley, G., Cheung, V.G., Green, S., Kelsey, K.T., Kerkvliet, N.I., Li, A.A., McCray, L., Meyer, O., Patterson, R.D., Pennie, W., Scala, R.A., Solomon, G.M., Stephens, M., Yager, J., Zeise, L., 2010. Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 13, 51–138. <https://doi.org/10.1080/10937404.2010.483176>
- Krewski, D., Andersen, M.E., Tyshenko, M.G., Krishnan, K., Hartung, T., Boekelheide, K., Wambaugh, J.F., Jones, D., Whelan, M., Thomas, R., Yauk, C., Barton-Maclaren, T., Cote, I., 2020. Toxicity testing in the 21st century: progress in the past decade and future perspectives. *Arch. Toxicol.* <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02613-4>
- Kruisselbrink, J.W., Engel, J., Voet, H. van der, Voorthuijsen, T. van, Boer, W.J. de, Lenthe, M.S. van, Donkersgoed, G. van, Chen, G., Jong, E. de, Klaveren, J.D. van, 2023. Standard regulatory action for retrospective cumulative risk assessment of pesticides in MCRA. *EFSA Supporting Publications* 20, 8376E. <https://doi.org/10.2903/SP.EFSA.2023.EN-8376>
- Landrigan, P.J., Fuller, R., Acosta, N.J.R., Adeyi, O., Arnold, R., Basu, N. (Nil), Baldé, A.B., Bertollini, R., Bose-O'Reilly, S., Boufford, J.I., Breyse, P.N., Chiles, T., Mahidol, C., Coll-Seck, A.M., Cropper, M.L., Fobil, J., Fuster, V., Greenstone, M., Haines, A., Hanrahan, D., Hunter, D., Khare, M., Krupnick, A., Lanphear, B., Lohani, B., Martin, K., Mathiasen, K. V., McTeer, M.A., Murray, C.J.L., Ndahimananjara, J.D., Perera, F., Potočnik, J., Preker, A.S., Ramesh, J., Rockström, J., Salinas, C., Samson, L.D., Sandilya, K., Sly, P.D., Smith, K.R., Steiner, A., Stewart, R.B., Suk, W.A., van Schayck, O.C.P., Yadama, G.N., Yumkella, K., Zhong, M., 2018. The Lancet Commission on pollution and health. *Lancet* 391, 462–512. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32345-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32345-0)
- Lary, D.J., Lary, T., Sattler, B., 2015. Using Machine Learning to Estimate Global PM2.5 for Environmental Health Studies. *Environ. Health Insights* 9. <https://doi.org/10.4137/EHI.S15664>

- Li, D., Dong, Z., Shi, L., Liu, J., Zhu, Z., Xu, W., 2019. Risk Probability Assessment of Sudden Water Pollution in the Plain River Network Based on Random Discharge from Multiple Risk Sources. *Water Resources Management* 2019 33:12 33, 4051–4065. <https://doi.org/10.1007/S11269-019-02366-W>
- Lin, Z., Chou, W.C., 2022. Machine Learning and Artificial Intelligence in Toxicological Sciences. *Toxicol. Sci.* 189, 7–19. <https://doi.org/10.1093/TOXSCI/KFAC075>
- Lofstedt, R., Boudier, F., Wardman, J., Chakraborty, S., 2011. The changing nature of communication and regulation of risk in Europe. *J. Risk Res.* 14, 409–429. <https://doi.org/10.1080/13669877.2011.557479>
- López Cruz, I.L., Salazar Moreno, R., Rojano Aguilar, A., Ruiz García, A., 2012. Análisis de sensibilidad global de un modelo de lechugas (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero. *Agrociencia*, ISSN 2521-9766, ISSN-e 1405-3195, Vol. 46, N° 4, 2012, págs. 383-397 46, 383–397.
- López-Mancisidor, P., Carbonell, G., Marina, A., Fernández, C., Tarazona, J.V., 2008. Zooplankton community responses to chlorpyrifos in mesocosms under Mediterranean conditions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.06.006>
- Ltd, Y., Carramusa, L., Mune, W., Hunt, N., Browne, L., Osborne, O., Potter, C., 2024. New Approach Methodologies (NAMs) to Support Regulatory Decisions for Chemical Safety FSA Research and Evidence. <https://doi.org/10.46756/001c.122591>
- Lu, E.H., Ford, L.C., Rusyn, I., Chiu, W.A., 2025. Reducing uncertainty in dose-response assessments by incorporating Bayesian benchmark dose modeling and in vitro data on population variability. *Risk Anal.* 45, 457–472. <https://doi.org/10.1111/RISA.17451>
- Ma, L., Ascough, J.C., Ahuja, L.R., Shaffer, M.J., Hanson, J.D., Rojas, K.W., 2000. Root zone water quality model sensitivity analysis using monte carlo simulation. *Transactions of the ASAE* 43, 883–895. <https://doi.org/10.13031/2013.2984>
- Manful, M.E., Ahmed, L., Barry-Ryan, C., 2023. New Approach Methodologies (NAMs) for safety testing of complex food matrices: A review of status, considerations, and regulatory adoption. *Trends Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104191>
- Marcelis, Q., Deconinck, E., Rogiers, V., Vanhaecke, T., Desmedt, B., 2023. Applicability of the DPRA on mixture testing: challenges and opportunities. *Arch. Toxicol.* 97, 2453–2461. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03551-y>
- Marx, U., Akabane, T., Andersson, T.B., Baker, E., Beilmann, M., Beken, S., Brendler-Schwaab, S., Cirit, M., David, R., Dehne, E.M., Durieux, I., Ewart, L., Fitzpatrick, S.C., Frey, O., Fuchs, F., Griffith, L.G., Hamilton, G.A., Hartung, T., Hoeng, J., Hogberg, H., Hughes, D.J., Ingber, D.E., Iskandar, A., Kanamori, T., Kojima, H., Kuehnl, J., Leist, M., Li, B., Loskill, P., Mendrick, D.L., Neumann, T., Pallocca, G., Rusyn, I., Smirnova, L., Steger-Hartmann, T., Tagle, D.A., Tonevitsky, A., Tsyb, S., Trapecar, M., de Water, B. van, Eijnden-Van Raaij, J. van den, Vulto, P., Watanabe, K., Wolf, A., Zhou, X., Roth, A., 2020. Biology-Inspired Microphysiological Systems to Advance Patient Benefit and Animal Welfare in Drug Development. *ALTEX* 37, 365–394. <https://doi.org/10.14573/altex.2001241>
- Michaels, R.A., 2020. Legacy Contaminants of Emerging Concern: Lead (Pb), Flint (MI), and Human Health. *Environmental Claims Journal* 32, 6–45. <https://doi.org/10.1080/10406026.2019.1661947>
- Miller, J.B., Machado, R.J., 2010. Prospective and retrospective exposure assessment. *Environmental Claims Journal* 22, 221–229. <https://doi.org/10.1080/10406026.2010.499755;WGROU:STRIN G:PUBLICATION>

- Mohammadi, A., Mansour, S.N., Najafi, M.L., Toolabi, A., Abdolahnejad, A., Faraji, M., Miri, M., 2022. Probabilistic risk assessment of soil contamination related to agricultural and industrial activities. *Environ. Res.* 203, 111837. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2021.111837>
- Moreau, M., Simms, L., Andersen, M.E., Trelles Sticken, E., Wiczorek, R., Pour, S.J., Chapman, F., Roewer, K., Otte, S., Fisher, J., Stevenson, M., 2024. Use of quantitative in vitro to in vivo extrapolation (QIVIVE) for the assessment of non-combustible next-generation product aerosols. *Frontiers in Toxicology* 6. <https://doi.org/10.3389/ftox.2024.1373325>
- Moreno-Ortega, A., Moreno-Rojas, R., Martínez-Álvarez, J.R., González Estechea, M., Castro González, N.P., Amaro López, M.Á., 2017. Probabilistic risk analysis of mercury intake via food consumption in Spain. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 43, 135–141. <https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2016.12.014>
- More, S., Bampidis, V., Benford, D., Bragard, C., Halldorsson, T., Hougaard Bennekou, S., Koutsoumanis, K., Machera, K., Naegeli, H., Nielsen, S., Schlatter, J., Schrenk, D., Silano, V., Turck, D., Younes, M., Aggett, P., Castenmiller, J., Giarola, A., de Sesmaisons-Lecarré, A., Tarazona, J., Verhagen, H., Hernández-Jerez, A., 2021. Statement on the derivation of Health-Based Guidance Values (HBGVs) for regulated products that are also nutrients. *EFSA Journal* 19. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6479>
- More, S.J., Bampidis, V., Benford, D., Bragard, C., Halldorsson, T.I., Hernández-Jerez, A.F., Bennekou, S.H., Koutsoumanis, K., Lambré, C., Machera, K., Mennes, W., Mullins, E., Nielsen, S.S., Schrenk, D., Turck, D., Younes, M., Aerts, M., Edler, L., Sand, S., Wright, M., Binaglia, M., Bottex, B., Abrahantes, J.C., Schlatter, J., 2022. Guidance on the use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA Journal* 20, e07584. <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2022.7584;JOURNAL:JOURNALS:18314732;WGROU:STRING:PUBLICATION>
- Myatt, G.J., Ahlberg, E., Akahori, Y., Allen, D., Amberg, A., Anger, L.T., Aptula, A., Auerbach, S., Beilke, L., Bellion, P., Benigni, R., Bercu, J., Booth, E.D., Bower, D., Brigo, A., Burden, N., Cammerer, Z., Cronin, M.T.D., Cross, K.P., Custer, L., Dettwiler, M., Dobo, K., Ford, K.A., Fortin, M.C., Gad-McDonald, S.E., Gellatly, N., Gervais, V., Glover, K.P., Glowienke, S., Van Gompel, J., Gutsell, S., Hardy, B., Harvey, J.S., Hillegass, J., Honma, M., Hsieh, J.H., Hsu, C.W., Hughes, K., Johnson, C., Jolly, R., Jones, D., Kemper, R., Kenyon, M.O., Kim, M.T., Kruhlak, N.L., Kulkarni, S.A., Kümmerer, K., Leavitt, P., Majer, B., Masten, S., Miller, S., Moser, J., Mumtaz, M., Muster, W., Neilson, L., Oprea, T.I., Patlewicz, G., Paulino, A., Lo Piparo, E., Powley, M., Quigley, D.P., Reddy, M.V., Richarz, A.N., Ruiz, P., Schilter, B., Serafimova, R., Simpson, W., Stavitskaya, L., Stidl, R., Suarez-Rodriguez, D., Szabo, D.T., Teasdale, A., Trejo-Martin, A., Valentin, J.P., Vuorinen, A., Wall, B.A., Watts, P., White, A.T., Wichard, J., Witt, K.L., Woolley, A., Woolley, D., Zwickl, C., Hasselgren, C., 2018. In silico toxicology protocols. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 96, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.04.014>
- Needham, 1997. Serum dioxin levels in Seveso, Italy, population in 1976 - Needham - 1997 - Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis - Wiley Online Library [WWW Document]. URL <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/%28SICI%291520-6866%281997%2917%3A4%5%3C225%3A%3AAID-TCM5%3E3.0.CO%3B2-K> (accessed 1.9.26).
- Nia, A.B., Van Schooten, F.J., Schilderman, P.A.E.L., De Kok, T.M.C.M., Haenen, G.R., Van Herwijnen, M.H.M., Van Agen, E., Pachen, D., Klijenans, J.C.S., 2001. A multi-biomarker approach to study the effects of smoking on oxidative DNA damage and repair and antioxidative defense mechanisms. *Carcinogenesis* 22, 395–401. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/22.3.395>

- Nielsen, G.H., Heiger-Bernays, W.J., Levy, J.I., White, R.F., Axelrad, D.A., Lam, J., Chartres, N., Abrahamsson, D.P., Rayasam, S.D.G., Shaffer, R.M., Zeise, L., Woodruff, T.J., Ginsberg, G.L., 2023. Application of probabilistic methods to address variability and uncertainty in estimating risks for non-cancer health effects. *Environmental Health* 2022 21:1 21, 129-. <https://doi.org/10.1186/S12940-022-00918-Z>
- Noyes, P.D., McElwee, M.K., Miller, H.D., Clark, B.W., Van Tiem, L.A., Walcott, K.C., Erwin, K.N., Levin, E.D., 2009. The toxicology of climate change: Environmental contaminants in a warming world. *Environ. Int.* <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.02.006>
- NRC, 2009. Science and decisions: Advancing risk assessment. *Science and Decisions: Advancing Risk Assessment* 1–403. <https://doi.org/10.17226/12209>
- Oaks, J.L., Gilbert, M., Virani, M.Z., Watson, R.T., Meteyer, C.U., Rideout, B.A., Shivaprasad, H.L., Ahmed, S., Chaudhry, M.J.I., Arshad, M., Mahmood, S., Ali, A., Khan, A.A., 2004. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 427, 630–633. <https://doi.org/10.1038/nature02317>
- OECD, 2026. Publications on testing and assessment of chemicals. Organisation for Economic Co-operation and Development. Available at: <https://www.oecd.org/en/topics/sub-issues/testing-of-chemicals/publications-on-testing-and-assessment-of-chemicals.html> (accessed 16 Mar 2026).
- OECD, 2025a. Test guidelines for the testing of chemicals. Organisation for Economic Co-operation and Development. Available at: <https://www.oecd.org/en/topics/sub-issues/testing-of-chemicals/test-guidelines.html> (accessed 9 Jan 2026).
- OECD, 2025b. Guidance Document on Good In Vitro Method Practices (GIVIMP), Second Edition. OECD Series on Testing and Assessment, OECD Series on Testing and Assessment. <https://doi.org/10.1787/5ba6777b-en>
- OECD, 2024a. (Q)SAR assessment framework: guidance for the regulatory assessment of (quantitative) structure–activity relationship models, predictions, and results based on multiple predictions. OECD Series on Testing and Assessment No. 386
- OECD, 2024b. Chemical safety and biosafety progress report. Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD, 2024c. Guidance Document on Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) for Serious Eye Damage and Eye Irritation, Third Edition, OECD Series on Testing and Assessment. OECD Publishing. <https://doi.org/10.1787/cdb440be-en>
- OECD, 2023. OECD omics reporting framework (OORF): guidance on reporting elements for the regulatory use of omics data from laboratory-based toxicology studies. Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD, 2022. Report on considerations from case studies on integrated approaches for testing and assessment (IATA). OECD Series on Testing and Assessment No. 369
- OECD, 2021a. Guidance on Key Considerations for the Identification and Selection of Safer Chemical Alternatives. OECD Series on Risk Management of Chemicals, OECD Series on Risk Management of Chemicals. <https://doi.org/10.1787/A1309425-EN>

- OECD, 2021b. Guidance document on the characterisation, validation and reporting of physiologically based kinetic (PBK) models for regulatory purposes. OECD Series on Testing and Assessment.
- OECD, 2021c. OECD, 2021c. Guidance document for the scientific review of adverse outcome pathways. OECD Series on Testing and Assessment No. 344; Series on Adverse Outcome Pathways No. 20.
- OECD, 2020a. Overview of concepts and available guidance related to integrated approaches to testing and assessment (IATA). Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD, 2020b. Case study on use of an integrated approach to testing and assessment (IATA) and new approach methods to inform a theoretical read-across for dermal exposure to propylparaben from cosmetics. OECD Series on Testing and Assessment No. 320.
- OECD, 2019a. Global Material Resources Outlook to 2060: Economic Drivers and Environmental Consequences. Global Material Resources Outlook to 2060. <https://doi.org/10.1787/9789264307452-EN>
- OECD, 2019b. Guiding Principles and Key Elements for Establishing a Weight of Evidence for Chemical Assessment. OECD Series on Testing and Assessment, OECD Series on Testing and Assessment. <https://doi.org/10.1787/f11597f6-en>
- OECD, 2018. Guidance Document on Good In Vitro Method Practices : (GIVIMP). OECD Publishing.
- OECD, 2017. Revised guidance document on developing and assessing adverse outcome pathways, second edition. OECD Series on Testing and Assessment No. 184.
- OECD, 2014a. The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins. OECD Series on Testing and Assessment, OECD Series on Testing and Assessment 2012. <https://doi.org/10.1787/9789264221444-en>
- OECD, 2014b. Guidance on grouping of chemicals, second edition. OECD Series on Testing and Assessment No. 194
- OECD, 2007. OECD principles for the validation, for regulatory purposes, of (quantitative) structure–activity relationship models. Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD, 2005. Guidance Document on the Validation and International Acceptance of New or Updated Test Methods for Hazard Assessment. OECD Series on Testing and Assessment, OECD Series on Testing and Assessment. <https://doi.org/10.1787/e1f1244b-en>
- Paini, A., Leonard, J.A., Joossens, E., Bessems, J.G.M., Desalegn, A., Dorne, J.L., Gosling, J.P., Heringa, M.B., Klaric, M., Kliment, T., Kramer, N.I., Loizou, G., Louisse, J., Lumen, A., Madden, J.C., Patterson, E.A., Proença, S., Punt, A., Setzer, R.W., Suciú, N., Troutman, J., Yoon, M., Worth, A., Tan, Y.M., 2019. Next generation physiologically based kinetic (NG-PBK) models in support of regulatory decision making. *Computational Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2018.11.002>
- Pallarés Porcar, S., Sánchez Iñigo, F.J., Núñez-Corcuera, B., Lozano Suárez, J., Arca-Lafuente, S., Moyano Cardaba, C., Fernandez-Agudo, A., de Alba-Gonzalez, M., Ramis, R., Galán Madruga, D., González-Caballero, M.C., Briz, V., Guevara-Hernandez, S., de Vega Pastor, M.E., Sarigiannis, D.A.A., Garcia Dos Santos, S., Tarazona, J. V., 2024. Combination of toxicological and epidemiological approaches for estimating the health impact of atmospheric pollutants. A proof of concept for NO₂. *Chemosphere* 363. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142883>

- Pallocca, G., Moné, M.J., Kamp, H., Luijten, M., van de Water, B., Leist, M., 2022. Next-Generation Risk Assessment of Chemicals - Rolling Out a Human-Centric Testing Strategy to Drive 3R Implementation: The RISK-HUNT3R Project Perspective. *ALTEX* 39, 419–426. <https://doi.org/10.14573/altex.2204051>
- Paltrinieri, N., Comfort, L., Reniers, G., 2019. Learning about risk: Machine learning for risk assessment. *Saf. Sci.* 118, 475–486. <https://doi.org/10.1016/J.SSCI.2019.06.001>
- Patlewicz, G., Karamertzanis, P., Paul Friedman, K., Sannicola, M., Shah, I., 2024. A systematic analysis of read-across within REACH registration dossiers. *Computational Toxicology* 30. <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2024.100304>
- Petersen, E.J., Elliott, J.T., Gordon, J., Kleinstreuer, N.C., Reinke, E., Roesslein, M., Toman, B., 2023. Technical Framework for Enabling High Quality Measurements in New Approach Methodologies (NAMs). *ALTEX* 40, 174–186. <https://doi.org/10.14573/altex.2205081>
- Posthuma, L., de Zwart, D., 2024. Species sensitivity distributions, in: Wexler, P. (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology (Fourth Edition)*. Academic Press, Oxford, pp. 661–669. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00014-2>
- Rana, H.Q., Cochrane, S.R., Hiller, E., Akindele, R.N., Nibecker, C.M., Svoboda, L.A., Cronin, A.M., Garber, J.E., Lathan, C.S., 2017. A comparison of cancer risk assessment and testing outcomes in patients from underserved vs. tertiary care settings. *Journal of Community Genetics* 2017 9:3 9, 233–241. <https://doi.org/10.1007/S12687-017-0347-Z>
- @RISK, 2025. @RISK/DecisionTools Suite 8 Guía de licencia/instalación.
- Roe, H.M., Tsai, H.H.D., Ball, N., Wright, F.A., Chiu, W.A., Rusyn, I., 2025. A Systematic Analysis of Read-Across Adaptations in Testing Proposal Evaluations by the European Chemicals Agency. *ALTEX* 42, 22–38. <https://doi.org/10.14573/altex.2408292>
- Rosca, A., Coronel, R., López-Alonso, V., Liste, I., González-Caballero, M.C., 2023. Human neural stem cells in developmental neurotoxicology: Current scenario and future prospects. *Adv. Neurotoxicol.* 9, 197–237. <https://doi.org/10.1016/bs.ant.2023.01.005>
- Rovida, C., Barton-Maclaren, T., Benfenati, E., Caloni, F., Chandrasekera, P.C., Chesné, C., Cronin, M.T.D., De Knecht, J., Dietrich, D.R., Escher, S.E., Fitzpatrick, S., Flannery, B., Herzler, M., Bennekou, S.H., Hubesch, B., Kamp, H., Kisitu, J., Kleinstreuer, N., Kovarich, S., Leist, M., Maertens, A., Nugent, K., Pallocca, G., Pastor, M., Patlewicz, G., Pavan, M., Presgrave, O., Smirnova, L., Schwarz, M., Yamada, T., Hartung, T., 2020. Internationalization of Read-Across as a Validated New Approach Method (NAM) for Regulatory Toxicology, in: *Altex. ALTEX Edition*, pp. 579–606. <https://doi.org/10.14573/altex.1912181>
- Russell, M., Gruber, M., 1987. Risk assessment in environmental policy-making. *Science* 236, 286–290. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.3563508>
- Ryan, S.J., Carlson, C.J., Mordecai, E.A., Johnson, L.R., 2019. Global expansion and redistribution of Aedes-borne virus transmission risk with climate change. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 13. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007213>

- Santonen, T., Mahiout, S., Alvito, P., Apel, P., Bessems, J., Bil, W., Borges, T., Bose-O'Reilly, S., Buekers, J., Cañas Portilla, A.I., Calvo, A.C., de Alba González, M., Domínguez-Morueco, N., López, M.E., Falnoga, I., Gerofke, A., Caballero, M.D.C.G., Horvat, M., Huuskonen, P., Kadikis, N., Kolossa-Gehring, M., Lange, R., Louro, H., Martins, C., Meslin, M., Niemann, L., Díaz, S.P., Plichta, V., Porras, S.P., Rousselle, C., Scholten, B., Silva, M.J., Šlejkovec, Z., Tratnik, J.S., Joksić, A.Š., Tarazona, J. V, Uhl, M., Van Nieuwenhuysse, A., Viegas, S., Vinggaard, A.M., Woutersen, M., Schoeters, G., 2023. How to use human biomonitoring in chemical risk assessment: Methodological aspects, recommendations, and lessons learned from HBM4EU. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 249. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2023.114139>
- Sauer, U.G., Deferme, L., Gribaldo, L., Hackermüller, J., Tralau, T., van Ravenzwaay, B., Yauk, C., Poole, A., Tong, W., Gant, T.W., 2017. The challenge of the application of 'omics technologies in chemicals risk assessment: Background and outlook. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 91, S14–S26. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.09.020>
- Schmeisser, S., Miccoli, A., von Bergen, M., Berggren, E., Braeuning, A., Busch, W., Desaintes, C., Gourmelon, A., Grafström, R., Harrill, J., Hartung, T., Herzler, M., Kass, G., Kleinstreuer, N., Leist, M., Luijten, M., Marx-Stoelting, P., Poetz, O., van Ravenzwaay, B., Roggeband, R., Rogiers, V., Roth, A., Sanders, P., Thomas, R.S., Marie Vinggaard, A., Vinken, M., van de Water, B., Luch, A., Tralau, T., 2023. New approach methodologies in human regulatory toxicology – Not if, but how and when! *Environ. Int.* <https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.108082>
- SESA, 2016. La evaluación de riesgos en salud: guía metodológica. Sociedad Española de Sanidad Ambiental. Available at: https://www.researchgate.net/publication/311087127_La_Evaluacion_de_Riesgos_en_Salud_Guia_metodologica (accessed 23 Feb 2026).
- SETAC, 2018. The weight-of-evidence framework represents the process of assembling, weighing, and evaluating information to come to a scientifically defensible conclusion. Society of Environmental Toxicology and Chemistry.
- Sewell, F., Alexander-White, C., Brescia, S., Currie, R.A., Roberts, R., Roper, C., Vickers, C., Westmoreland, C., Kimber, I., 2024. New approach methodologies (NAMs): identifying and overcoming hurdles to accelerated adoption. *Toxicol. Res. (Camb)*. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfae044>
- Shultz, S., Baral, H.S., Charman, S., Cunningham, A.A., Das, D., Ghalsasi, G.R., Goudar, M.S., Green, R.E., Jones, A., Nighot, P., Pain, D.J., Prakash, V., 2004. Diclofenac poisoning is widespread in declining vulture populations across the Indian subcontinent. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 271. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2004.0223>
- Singh, A.V., Varma, M., Rai, M., Pratap Singh, S., Bansod, G., Laux, P., Luch, A., 2024. Advancing Predictive Risk Assessment of Chemicals via Integrating Machine Learning, Computational Modeling, and Chemical/Nano-Quantitative Structure-Activity Relationship Approaches. *Advanced Intelligent Systems* 6, 2300366. <https://doi.org/10.1002/AISY.202300366;WGROU:STRING: PUBLICATION>
- Sin, H.J., Bae, J.Y., Cho, S.A., Choi, M., Ha, C., Park, C.E., Oh, J.J., An, S., Kim, B.H., 2025. Validation study of spectrophotometric direct peptide reactivity assay (spectro-DPRA), a newly modified in chemico skin sensitization test method. *Toxicol. Res.* 41, 455–475. <https://doi.org/10.1007/s43188-025-00287-y>

- Smith, A., Vrbos, D., Alabiso, J., Healy, A., Ramsay, J., Gallani, B., 2021. Future directions for risk communications at EFSA. *EFSA Journal* 19, e190201. <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2021.E190201>
- Stefano, S., Lanno, A., Ghironi, S., Passoni, A., Bagnati, R., Roncaglioni, A., Davoli, E., Fattore, E., 2025. Refined methodologies for probabilistic dietary exposure assessment for food contaminants based on the observed individual means methodology. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* 2025 35:3 35, 375–381. <https://doi.org/10.1038/s41370-024-00740-4>
- Strimbu, K., Tavel, J.A., 2010. What are biomarkers? *Curr. Opin. HIV AIDS* 5, 463–466. <https://doi.org/10.1097/COH.0B013E32833ED177>
- Stucki, A.O., Barton-Maclaren, T.S., Bhuller, Y., Henriquez, J.E., Henry, T.R., Hirn, C., Miller-Holt, J., Nagy, E.G., Perron, M.M., Ratzlaff, D.E., Stedeford, T.J., Clippinger, A.J., 2022. Use of new approach methodologies (NAMs) to meet regulatory requirements for the assessment of industrial chemicals and pesticides for effects on human health. *Frontiers in Toxicology*. <https://doi.org/10.3389/ftox.2022.964553>
- Tarazona, D., Tarazona, G., Tarazona, J.V., 2021. A simplified population-level landscape model identifying ecological risk drivers of pesticide applications, part one: Case study for large herbivorous mammals. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 18. <https://doi.org/10.3390/ijerph18157720>
- Tarazona, J.V., 1997. The identification of thresholds of acceptability and danger: the biological route. *Arch. Toxicol. Suppl.* 19. https://doi.org/10.1007/978-3-642-60682-3_12
- Tarazona, J.V., Fernandez, M.D., Vega, M.M., 2005. Regulation of contaminated soils in Spain. A new legal instrument. *J. Soils Sediments* 5. <https://doi.org/10.1065/jss2005.05.135>
- Tarazona, J.V., González-Caballero, M.C., de Alba-Gonzalez, M., Pedraza-Diaz, S., Cañas, A., Dominguez-Morueco, N., Esteban-López, M., Cattaneo, I., Katsonouri, A., Makris, K.C., Halldorsson, T.I., Olafsdottir, K., Zock, J.-P., Dias, J., De Decker, A., Morrens, B., Berman, T., Barnett-Itzhaki, Z., Lindh, C., Gilles, L., Govarts, E., Schoeters, G., Weber, T., Kolossa-Gehring, M., Santonen, T., Castaño, A., 2022. Improving the Risk Assessment of Pesticides through the Integration of Human Biomonitoring and Food Monitoring Data: A Case Study for Chlorpyrifos. *Toxics* 10. <https://doi.org/10.3390/toxics10060313>
- Tarazona, J. V., 2023a. Ecological exposure limits and guidelines. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00032-4>
- Tarazona, J. V., 2023b. Ecological quality standards (EQS) global. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00033-6>
- Tarazona, Jose V., Cattaneo, I., Niemann, L., Pedraza-Diaz, S., González-Caballero, M.C., de Alba-Gonzalez, M., Cañas, A., Dominguez-Morueco, N., Esteban-López, M., Castaño, A., Borges, T., Katsonouri, A., Makris, K.C., Ottenbros, I., Mol, H., De Decker, A., Morrens, B., Berman, T., Barnett-Itzhaki, Z., Probst-Hensch, N., Fuhrmann, S., Tratnik, J.S., Horvat, M., Rambaud, L., Riou, M., Schoeters, G., Govarts, E., Kolossa-Gehring, M., Weber, T., Apel, P., Namorado, S., Santonen, T., 2022. A Tiered Approach for Assessing Individual and Combined Risk of Pyrethroids Using Human Biomonitoring Data. *Toxics* 2022, Vol. 10, Page 451 10, 451. <https://doi.org/10.3390/toxics10080451>

- Tarazona, J. V., de Alba-Gonzalez, M., Bedos, C., Benoît, P., Bertrand, C., Crouzet, O., Dagès, C., Dorne, J.L.C.M., Fernandez-Agudo, A., Focks, A., González-Caballero, M.C., Kroll, A., Liess, M., Loureiro, S., Ortiz-Santaliestra, M.E., Rasmussen, J.J., Royauté, R., Rundlöf, M., Schäfer, R.B., Short, S.J., Siddique, A., Sousa, J.P., Spurgeon, D.J., Staub, P.F., Topping, C.J., Voltz, M., Axelman, J., Aldrich, A.P., Duquesne, S.J., Mazerolles, V., Devos, Y., 2024. A conceptual framework for landscape-based environmental risk assessment (ERA) of pesticides. *Environ. Int.* 191. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108999>
- Tarazona, J. V., Ramos-Peralonso, M.J., 2024. Risk assessment, ecological, in: Wexler, P. (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology (Fourth Edition)*. Academic Press, Oxford, pp. 343–349. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00982-9>
- Thompson, K.M., Graham, J.D., 1996. Going beyond the single number: Using probabilistic risk assessment to improve risk management. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 2, 1008–1034. <https://doi.org/10.1080/10807039609383660>;CTYPE:STRING:JOURNAL
- Thomson, M.C., Stanberry, L.R., 2022. Climate Change and Vectorborne Diseases. *New England Journal of Medicine* 387, 1969–1978. <https://doi.org/10.1056/nejmra2200092>
- Tollefsen, K.E., Scholz, S., Cronin, M.T., Edwards, S.W., de Knecht, J., Crofton, K., Garcia-Reyero, N., Hartung, T., Worth, A., Patlewicz, G., 2014. Applying Adverse Outcome Pathways (AOPs) to support Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA). *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 70, 629–640. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.09.009>
- Ukbamichael, A.G., Sagredo, T., Urionabarrenetxea, E., Soto, M., Tarazona, J. V., 2025. A simplified landscape-based approach for including agronomical and ecological characteristic in pesticide risk assessments for terrestrial vertebrates. *Environmental Pollution* 385. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2025.127142>
- UK FSA, 2023. Cover-NAMs roadmap (2023). UK Food Standards Agency.
- UNEP, 2019. Global chemicals outlook II: from legacies to innovative solutions. United Nations Environment Programme. Available at: <https://www.unep.org/resources/report/global-chemicals-outlook-ii-legacies-innovative-solutions> (accessed 23 Feb 2026).
- UNESCO, 2005. Informe del grupo de expertos sobre el principio precautorio. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization.
- US EPA, 2023. EPA new approach methods: efforts to reduce use of vertebrate animals in chemical testing. U.S. Environmental Protection Agency. Available at: <https://www.epa.gov/chemical-research/epa-new-approach-methods-efforts-reduce-use-vertebrate-animals-chemical-testing> (accessed 3 Mar 2026).
- US EPA, 2014. Risk assessment forum white paper: probabilistic risk assessment methods and case studies. U.S. Environmental Protection Agency.
- Van Den Brink, P.J., Tarazona, J.V., Solomon, K.R., Knacker, T., Van Den Brink, N.W., Brock, T.C.M., Hoogland, J.P., 2005. The use of terrestrial and aquatic microcosms and mesocosms for the ecological risk assessment of veterinary medicinal products. *Environ. Toxicol. Chem.* 24. <https://doi.org/10.1897/04-268R.1>
- Van Der Voet, H., Slob, W., 2007. Integration of probabilistic exposure assessment and probabilistic hazard characterization. *Risk Analysis* 27, 351–371. <https://doi.org/10.1111/J.1539-6924.2007.00887.X>;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER

- Vila-Candel, R., Navarro-Illana, E., Mena-Tudela, D., Pérez-Ros, P., Castro-Sánchez, E., Soriano-Vidal, F.J., Quesada, J.A., 2020. Influence of Puerperal Health Literacy on Tobacco Use during Pregnancy among Spanish Women: A Transversal Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2020, Vol. 17, Page 2910 17, 2910. <https://doi.org/10.3390/IJERPH17082910>
- Villeneuve, D.L., Crump, D., Garcia-Reyero, N., Hecker, M., Hutchinson, T.H., LaLone, C.A., Landesmann, B., Lettieri, T., Munn, S., Nepelska, M., Ottinger, M.A., Vergauwen, L., Whelan, M., 2014a. Adverse outcome pathway (AOP) development I: Strategies and principles. *Toxicological Sciences* 142, 312–320. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu199>
- Villeneuve, D.L., Crump, D., Garcia-Reyero, N., Hecker, M., Hutchinson, T.H., LaLone, C.A., Landesmann, B., Lettieri, T., Munn, S., Nepelska, M., Ottinger, M.A., Vergauwen, L., Whelan, M., 2014b. Adverse outcome pathway development II: Best practices. *Toxicological Sciences* 142, 321–330. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu200>
- Weersink, A., Fraser, E., Pannell, D., Duncan, E., Rotz, S., 2018. Opportunities and Challenges for Big Data in Agricultural and Environmental Analysis. *Annu. Rev. Resour. Economics* 10, 19–37. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-RESOURCE-100516-053654/CITE/REFWORKS>
- Wehrspohn, U., Ernst, D., 2022. When Do I Take Which Distribution? *SpringerBriefs in Business*. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-07330-4>
- WHO, 2021. WHO human health risk assessment toolkit. World Health Organization.
- WHO, 2019. Preventing disease through healthy environments: exposure to arsenic: a major public health concern. World Health Organization.
- WHO, 2010. WHO human health risk assessment toolkit: chemical hazards. World Health Organization.
- Wittwehr, C., Blomstedt, P., Gosling, J.P., Peltola, T., Raffael, B., Richarz, A.N., Sienkiewicz, M., Whaley, P., Worth, A., Whelan, M., 2020. Artificial Intelligence for chemical risk assessment. *Computational Toxicology* 13, 100114. <https://doi.org/10.1016/J.COMTOX.2019.100114>
- Yamada, T., Cohen, S.M., Lake, B.G., 2025. The modes of action for rodent liver tumor formation by activators of the constitutive androstane receptor (CAR) and the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) are not relevant to human cancer risk: an updated critical evaluation. *Crit. Rev. Toxicol.* 55, 549–586. <https://doi.org/10.1080/10408444.2025.2513332>
- Yang, J., Huang, D., Zhang, L., Xue, W., Wei, X., Qin, J., Ou, S., Wang, J., Peng, X., Zhang, Z., Zou, Y., 2018. Multiple-life-stage probabilistic risk assessment for the exposure of Chinese population to PBDEs and risk managements. *Science of The Total Environment* 643, 1178–1190. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.06.200>
- Yasobant, S., Lekha, K.S., Saxena, D., 2024. Risk Assessment Tools from the One Health Perspective: A Narrative Review. *Risk Manag. Healthc. Policy* 17, 955. <https://doi.org/10.2147/RMHP.S436385>
- Zhang, S., Han, Y., Peng, J., Chen, Y., Zhan, L., Li, J., 2023. Human health risk assessment for contaminated sites: A retrospective review. *Environ. Int.* 171, 107700. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2022.107700>
- Zhuang, X., Lu, C., 2016. PBPK modeling and simulation in drug research and development. *Acta Pharm. Sin. B*. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.04.004>

- Zhu, H., Bouhifd, M., Donley, E., Egnash, L., Kleinstreuer, N., Kroese, E.D., Liu, Z., Luechtefeld, T., Palmer, J., Pamies, D., Shen, J., Strauss, V., Wu, S., Hartung, T., 2016. Supporting read-across using biological data. *ALTEX* 33, 167–182. <https://doi.org/10.14573/altex.1601252>
- Zinsstag, J., Schelling, E., Waltner-Toews, D., Tanner, M., 2011. From “one medicine” to “one health” and systemic approaches to health and well-being. *Prev. Vet. Med.* 101, 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.07.003>
- Zolezzi, M., Cattaneo, C., Tarazona, J. V., 2005. Probabilistic Ecological Risk Assessment of 1,2,4-Trichlorobenzene at a Former Industrial Contaminated Site. *Environ. Sci. Technol.* 39, 2920–2926. <https://doi.org/10.1021/es049214x>
- Zushin, P.J.H., Mukherjee, S., Wu, J.C., 2023. FDA Modernization Act 2.0: transitioning beyond animal models with human cells, organoids, and AI/ML-based approaches. *Journal of Clinical Investigation* 133. <https://doi.org/10.1172/JCI175824>.

