



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN
CIENCIAS AMBIENTALES

“EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A PBDEs EN NIÑOS DE MÉXICO”

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA:

Q. MA. DEL ROCÍO RAMÍREZ JIMÉNEZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. LETICIA YÁÑEZ ESTRADA

COMITÉ TUTELAR:

DRA. MARÍA CATALINA ALFARO DE LA TORRE

DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN
CIENCIAS AMBIENTALES

"EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A PBDEs EN NIÑOS DE MÉXICO"

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA

Q. MA. DEL ROCÍO RAMÍREZ JIMÉNEZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. LETICIA YAÑEZ ESTRADA

PRESIDENTE:

DRA. LETICIA YAÑEZ ESTRADA

SECRETARIO:

DRA. JACQUELINE CALDERÓN HERNÁNDEZ

VOCAL:

DRA. BERTHA IPENE JUÁREZ FLORES

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P.

JULIO 2007

PROYECTO REALIZADO EN:

**DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUÍS POTOSÍ**

CON FINANCIAMIENTO DE:

OPS – GEF ESTUDIOS AMBIENTALES EN CENTROAMÉRICA

FOMIX SLP/CONACYT 2005 FMSLP_2005_CO139

**CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT)
BECA-TESIS (CONVENIO No. 190636)**

**LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO A
TRAVÉS DEL PROGRAMA NACIONAL DE POSGRADOS (PNP-
CONACYT)**

**CON APOYO DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL (IPN) A
TRAVÉS DEL COMITÉ TÉCNICO DE PRESTACIONES A
BECARIOS (COTEPABE)**

Gracias

A mi familia y amigos por su afecto y apoyo incondicional.

A mi directora y asesores de tesis y sinodales: Dra. Leticia Yáñez, Dr. Fernando Díaz-Barriga, Dra. Catalina Alfaro, Dra. Jaqueline Calderón y Dra. Bertha Juárez por sus invaluable aportaciones y por su valioso tiempo.

A los niños de Milpillas y El Refugio, S.L.P.; de Chihuahua, Chih.; y de San Juan Tilapa, Estado de México, que participaron en este proyecto.

A la QFB. Esperanza de la Cruz por su apoyo en la realización de los análisis de las hormonas tiroideas.

A la Dra. Jaqueline Calderón y a Diana Rocha por su asesoría en la realización del análisis estadístico.

A la QFB. Gisela Mercado, Q. Gregorio Martínez, Dra. Dora Chávez, Dr. Jorge A. Carmona, p.QBP Macrina Silva, QFB. Leticia Carrizales y a mis compañeras del Laboratorio de Toxicología Ambiental: Edna Rico, Mónica Martínez, Dania López, Norma Rivero, Rebeca Mejía e Izanami, por su apoyo en la realización de las campañas de muestreo.

A Don Ángel y a Claudia.

ÍNDICE GENERAL

Resumen	ix
I. Antecedentes	12
1.1 Polibromados difenil éter	13
1.2 Justificación y objetivos	40
II. Metodología	42
III. Resultados	55
IV. Discusión y conclusiones	76
Bibliografía	91
Anexos	
Anexo I: Análisis cromatográfico. Validación del método instrumental. Validación del método analítico.	110
Anexo II: Formato del cuestionario aplicado a los padres de familia de los niños participantes en el estudio e información recabada.	154

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Productos que contienen PBDEs	14
Tabla 2.	Propiedades fisicoquímicas de algunos congéneres polibromados	16
Tabla 3.	PBDEs cuantificados en muestras de suero de niños	47
Tabla 4.	Estándares de control de calidad de las hormonas tiroideas	53
Tabla 5.	Número de niños participantes por sitio de muestreo	57
Tabla 6.	Características sociodemográficas, hábitos alimenticios y actividades extraescolares de los niños participantes	58
Tabla 7.	Porcentaje de muestras de suero de niños con niveles arriba del límite de detección del método (LDM) de PBDEs en cuatro localidades de México	59
Tabla 8.	Concentraciones séricas de PBDEs en los niños residentes de cuatro localidades de México	61
Tabla 9.	Percentiles de los niveles de PBDEs en suero de niños de cuatro localidades de México	64
Tabla 10.	Correlaciones entre las concentraciones séricas de PBDEs de los niños y su edad, el período de lactancia y el tiempo de residencia en su localidad	71
Tabla 11.	Comparación de las concentraciones séricas de PBDEs de los niños con respecto a sus hábitos alimenticios (consumo de pescado y mariscos)	72
Tabla 12.	Comparación de las concentraciones séricas de PBDEs de los niños con respecto a sus hábitos alimenticios (consumo de atún)	73
Tabla 13.	Comparación de las concentraciones séricas de PBDEs de los niños que viven en Milpillás, S.L.P. y que son recolectores y/o pepenadores de basura	74
Tabla 14.	Comparación de los niveles séricos de la Σ PBDEs de los niños evaluados, con respecto a los niveles reportados en niños por otros estudios.	78
Tabla 15.	Ingesta diaria estimada ($\mu\text{g}/\text{kg}$ peso día) de PBDEs para varios grupos de edad de la población general en Canadá	87

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura química general de los PBDEs	15
Figura 2.	Estructuras de las hormonas tiroideas	34
Figura 3.	Localización de las zonas de estudio: Milpillas (San Luís Potosí), San Juan Tilapa (Edo. de México), Zona conurbada a la Ciudad de Chihuahua (Chihuahua) y El Refugio (San Luís Potosí).	45
Figura 4.	Cromatogramas de: a) una mezcla de polibromados difenil éter en hexano; b) una mezcla de polibromados difenil éter en suero blanco fortificado; y c) una muestra de suero de uno de los niños participantes en el estudio	56
Figura 5.	Concentraciones promedio de PBDEs en suero de niños de cuatro localidades en México. a) Niveles promedio de los congéneres individuales de PBDEs en suero de niños mexicanos. b) Niveles promedio de la Σ PBDEs (sumatoria de los congéneres BDEs 47, 99, 100, 153, 154 y 209) en el suero de los niños evaluados	62
Figura 6.	Proporción de los PBDEs (%) en suero de niños de cuatro localidades de México	65
Figura 7.	Comparación de los niveles de PBDEs en suero de niños de cuatro localidades de México	66
Figura 8.	Proporción de las concentraciones séricas de las hormonas tiroideas en los niños evaluados con respecto a los valores de referencia	68
Figura 9.	Concentraciones individuales de la Σ PBDEs en los niños residentes de cuatro localidades de México	77
Figura 10.	Comparación del patrón de los congéneres polibromados en el suero de los niños evaluados con respecto a los encontrados en otras matrices	82

RESUMEN

Los polibromados difenil éter (PBDEs) son un grupo de compuestos químicos empleados como aditivos en polímeros y textiles, utilizados en la fabricación de una gran variedad y cantidad de productos de consumo humano como: muebles, materiales de construcción, teléfonos celulares, televisores, electrodomésticos, computadoras, tableros de circuitos electrónicos, cortinas, alfombras, asientos de automóviles y aviones entre otros, con la finalidad de retardar o inhibir la fase inicial del fuego (Madsen, et. al., 2003). Debido a que son compuestos lipofílicos y persistentes, se bioacumulan en los organismos vivos y se biomagnifican. Han sido detectados en biota, alimentos, aire, polvo, suelo, sedimentos, aguas y lodos residuales en Norteamérica, Europa, Asia y regiones remotas como el Ártico y sus niveles han aumentado alrededor de 100 veces en los últimos 30 años en tejidos humanos; la población de Norteamérica esta expuesta a niveles más altos de PBDEs que la europea y asiática, la carga corporal promedio de PBDEs en residentes de los Estados Unidos es de 35 ng/g lípidos, mientras que en Suecia es 20 veces inferior (Tittlemier y col., 2002; Birnbaum, 2004; de Wit, 2002; Hale y col., 2003; Hites y col., 2004). Los estudios en poblaciones infantiles son muy escasos, algunos han reportado que los niños más pequeños presentan niveles más altos de PBDEs (Thomsen y col., 2002; Fangstrom y col., 2005; Fischer y col., 2006), por lo que están más expuestos que los adultos. La literatura sobre los efectos tóxicos de los PBDEs es muy limitada, con base en estudios en modelos animales se ha demostrado que están asociados con daños neurológicos, disrupción de las hormonas tiroideas y efectos hepáticos (Birnbaum, 2004; de Wit, 2002; Darnerud, 2003).

El primer objetivo del presente trabajo fue validar y estandarizar el método analítico para la determinación de PBDEs en suero. El método fue lineal en el intervalo de concentración de 0.1 a 16 ppb, los coeficientes de correlación de todos los congéneres polibromados fueron iguales o mayores a 0.99; fue preciso ya que los coeficientes de variación obtenidos en las pruebas de repetibilidad y reproducibilidad fueron menores al 32% y 46%, respectivamente y los porcentajes de recobro fueron

de 60 a 120%, criterios establecidos por la AOAC Peer Verified Methods Policies and Procedures (AOAC International, 1993). Los porcentajes de recobro de los estándares de control de calidad estuvieron entre el 96% y el 113%.

Una vez validado el método analítico, se recolectaron y analizaron 182 muestras de sangre de niños residentes de cuatro comunidades urbanas y suburbanas de México, éstas fueron: Milpilllas (64 niños) y El Refugio (47 niños) en el Estado de San Luis Potosí, San Juan Tilapa (43 niños) en el Edo. de México y en la ciudad de Chihuahua (28 niños). Cerca de Milpilllas, de la ciudad de Chihuahua y de San Juan Tilapa existen basureros municipales y El Refugio se caracteriza por ser una comunidad agrícola. Los valores de la mediana de la Σ PBDEs fueron: 5.5 ng/g de lípidos (2 a 40) en Milpilllas, 2.9 ng/g de lípidos (<LD-18.4) en Chihuahua, 1.4 ng/g de lípidos (<LD-17.4) en San Juan Tilapa y 3.8 ng/g de lípidos (1.1-20) en El Refugio; estas concentraciones no fueron estadísticamente diferentes entre las comunidades. El congéner predominante en las muestras de suero fue el BDE-47, seguido por el BDE-99 y el BDE153, este patrón de abundancia fue similar al reportado en otros estudios (Guvenius y col., 2003; Julander y col., 2005).

Con la finalidad de determinar la influencia de los niveles de PBDEs sobre las concentraciones de las hormonas tiroideas, se realizó la determinación sérica de las hormonas T3 libre, T4 libre y TSH por inmunoensayo. Los niveles de las hormonas tiroideas de la mayoría de los niños estuvieron dentro de los intervalos fisiológicos (el 91% para TSH, el 83% para T3 libre y el 97% para T4 libre). Se observaron correlaciones negativas entre los niveles de TSH y las concentraciones del BDE-47; y entre los niveles de T3 y el BDE-47, el BDE-153 y la Σ PBDEs. En El Refugio se encontró una correlación negativa entre los niveles de T4 y los congéneres BDE-99 y BDE-153; y en San Juan Tilapa una correlación positiva entre los niveles de T4 y el BDE-47 y la Σ PBDEs.

Se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre los niveles de algunos PBDEs y algunas de las variables del cuestionario de exposición (edad,

tiempo de lactancia, tiempo de residencia, entre otras). En San Juan Tilapa, la edad del niño correlacionó significativamente con los niveles del BDE-47 ($r = -0.42$, $p < 0.01$) y de la Σ PBDEs ($r = -0.44$, $p < 0.01$). En Milpillas, los valores de la mediana (U-Mann-Whitney, $p < 0.05$) de la Σ PBDEs y de los congéneres BDE-47 y BDE-100 de los niños que consumen pescados y mariscos fueron mayores (8.9, 5.3 y 0.28 ng/g de lípidos, respectivamente) que los de los niños que no consumen este tipo de alimento (5.9, 3.2 y 0.16 ng/g de lípidos, respectivamente). En Milpillas, los valores de la mediana (U-Mann-Whitney, $p < 0.05$) de la Σ PBDEs y de los congéneres BDE-47, BDE-99 y BDE-100 de los niños que recolectan y/o pepeñan basura fueron mayores (12.7, 7.6, 1.5, 0.38 ng/g de lípidos, respectivamente) en comparación con los de los niños que no realizan esta actividad (6.1, 3.2, 0.47 y 0.14, respectivamente).

Este estudio demostró que tanto los niños de zonas suburbanas como urbanas en México se encuentran expuestos a compuestos polibromados difenil éter (PBDEs). Dada la vulnerabilidad de los niños a los efectos tóxicos de contaminantes ambientales, se requieren estudios adicionales para cuantificar las concentraciones de estos compuestos en los niños más pequeños (menores de 7 años), y evaluar el riesgo a la salud por la exposición a los mismos.

I. ANTECEDENTES

Los incendios son una causa significativa de daño a bienes materiales y de pérdidas de vidas humanas, tan solo en los Estados Unidos de América, existen registros en los que se indican que los accidentes por incendios han causado la muerte a más de 3,000 personas por año, dañando a más de 20,000 y las pérdidas económicas a propiedades exceden los \$11 billones de dólares (Birnbaum, 2004). Para minimizar estas pérdidas se han incrementado los estándares de seguridad contra el fuego, para ello una gran variedad de productos de consumo humano, hechos de materiales sintéticos han sido modificados con retardantes de flama (RF), éstos son sustancias químicas que inhiben la ignición y propagación del fuego o retardan la fase inicial del mismo (Birnbaum, 2004).

Actualmente se comercializan en el mercado más de 175 RF diferentes, éstos se clasifican principalmente en cuatro grupos: inorgánicos, compuestos conteniendo nitrógeno, organofosforados y organohalogenados (Alaee y col., 2002). El último grupo incluye compuestos de cloro y de bromo (retardantes de flama bromados o RFBs), siendo los compuestos con bromo los más efectivos, de menor costo y de mayor aplicación (Troitzsch y col., 1998).

Los RFBs constituyen alrededor del 25% del consumo total de RFs, se han comercializados desde 1960 y su uso ha aumentado en los últimos 20 años, los de mayor producción son: polibromados difenil éter (PBDEs), tetrabromo bisfenol A (TBBPA) y hexabromociclododecano (HBCD). En el 2001 la demanda mundial de RFBs fue estimada en más de 200,000 toneladas, Asia consume el 58%, Europa el 15% y Estados Unidos de América el 27%; el TBBPA y el Deca-BDE son los de más alto consumo, Asia es el principal consumidor del TBBPA con el 76%, Europa utiliza el 57% del HBCD y Estados Unidos de América es el principal consumidor de PBDEs con alrededor del 50% de la demanda global (BSEF, 2001).

Los RFBs son empleados en una gran variedad de materiales inflamables, tales como plásticos, en aplicaciones eléctricas o electrónicas, en la fabricación de cubiertas y espumas para muebles, en productos de madera, en materiales de construcción, en el aislamiento de materiales como alambres metálicos de uso eléctrico y electrónico, en refacciones de autos y aviones, y como cubiertas para proteger estructuras de acero (Hale y col., 2003). Son usados como aditivos o reactivos en concentraciones del 5 a 30% del peso total del producto, los reactivos están químicamente enlazados al material, son mezclados con los plásticos antes de la polimerización para formar enlaces covalentes dentro de la matriz del polímero, por otro lado, los aditivos no están químicamente enlazados al material, solo están mezclados con el polímero, lo que aumenta la probabilidad de que sean liberados al ambiente durante su manufactura, uso y disposición final de los productos que los contienen (Madsen y col., 2003).

1.1 POLIBROMADOS DIFENIL ÉTER

1.1.1 Consumo y uso

Los PBDEs son empleados como aditivos en polímeros y textiles, su propiedad retardante se basa en la eliminación de los radicales libres formados durante los procesos de combustión (WHO, 1997). La producción de PBDEs se inició en 1970s en Alemania y son tres las formulaciones comerciales en uso: PentaBDE, OctaBDE y DecaBDE (Madsen, et. al., 2003). La demanda global de estos retardantes en el 2001 fue de 67,500 toneladas métricas, de las cuales el 83% correspondió a la mezcla DecaBDE, el 11% a la PentaBDE y el 6% a la OctaBDE (BSEF, 2001). La mezcla PentaBDE es usada en espuma de poliuretano en muebles y tapicería; la OctaBDE en acrilonitrilo butadieno estireno (ABS) y en gabinetes de computadoras, teléfonos celulares, juegos electrónicos, televisores y electrodomésticos; y la mezcla DecaBDE en poliestireno de alto impacto para televisores, computadoras y otros aparatos electrónicos, en tableros de circuitos y en aplicaciones textiles, tales como fibra poliéster y recubrimientos de alfombras, asientos de automóviles y aviones

(ATSDR, 2004). En la tabla 1 se enlistan los productos que contienen polibromados difenil éter (PBDEs) como retardantes de flama.

Tabla 1. Productos que contienen PBDEs

Materiales usados en	Tipos de PBDEs	Productos de consumo
Plásticos	DecaBDE, OctaBDE, PentaBDE	Computadoras, televisores, secadoras de pelo, copiadoras, faxes, impresoras, cafeteras, partes plásticas de automóviles, paneles de iluminación, alambres y cables de PVC, conectores eléctricos, fusibles, gabinetes, cajas, interruptores, enchufes de lámpara, tableros de circuitos, detectores de humo.
Textiles	DecaBDE, PentaBDE	Cubiertas e impregnación de muebles de casa y oficina, alfombras, asientos de automóviles, aviones y trenes.
Espuma de poliuretano	PentaBDE	Muebles de oficina y casa (sofás, sillas, alfombras, colchones), asientos de automóviles, autobús, aviones y trenes, paneles de aislamiento de sonido, imitación de madera, materiales de empaçado.

Fuente: WHO (1994).

1.1.2 Estructura química y composición de las mezclas comerciales

La molécula de PBDEs esta conformada por dos anillos bencénicos unidos por un átomo de oxígeno, su fórmula química condensada es $C_{12}H_{(9-0)}Br_{(1-10)}O$, la suma de átomos de hidrógeno y bromo siempre es igual a 10, en la figura 1 se presenta la estructura química general de los PBDEs (ATSDR, 2004).

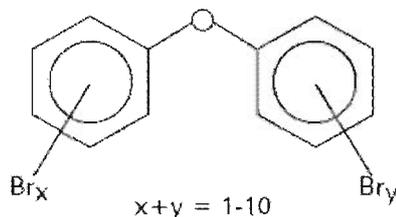


Figura 1. Estructura química general de los PBDEs

El número y las posiciones de los átomos de bromo determinan el tipo de PBDE. Considerando los patrones de sustitución en las 10 posibles posiciones, existen 10 familias y un total de 209 congéneres (ATSDR, 2004). Los PBDEs son producidos por brominación catalítica de difenil éter y las formulaciones comerciales no son sustancias puras, sino mezclas de un número limitado de congéneres, la mezcla PentaBDE esta constituida principalmente por congéneres tetra (24-38%), penta (50-62%) y hexaBDEs (4-8%), los más abundantes son el BDE47, BDE99 y BDE100; la mezcla OctaBDE esta formada por congéneres hexa (10-12%), hepta (43-44%), octa (31-35%) y nonaBDEs (9-11%), el BDE-183 es el congéner más abundante; y la mezcla DecaBDE la constituyen congéneres nonaBDEs (0.3-3%) y del 97-98% de decaBDEs (Darnerud y col., 2001).

1.1.3 Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades químicas de los PBDEs dependen del número de átomos de bromo y de sus posiciones en el anillo bencénico. Son compuestos lipofílicos con baja solubilidad en agua y coeficientes de partición octanol-agua K_{ow} que oscilan entre 4.3 y 9.9, se bioacumulan incrementando su concentración en los organismos vivos en función del tiempo y se biomagnifican incorporándose a la cadena trófica. Son compuestos persistentes, ya que son resistentes a la degradación por procesos naturales (Tittlemier y col., 2002; Palm y col., 2002; Ellinger y col., 2003; Darnerud y col., 2001). En la siguiente tabla se presentan las propiedades de algunos congéneres.

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de algunos congéneres polibromados

Congéner	Fórmula química ^c	Presión de vapor (mm Hg) ^a	Solubilidad en agua (µg/L) ^a	Log Kow ^b
BDE-3	C ₁₂ H ₉ OBr	1.94 x 10 ⁻³	-	-
BDE-15	C ₁₂ H ₈ OBr ₂	1.30 x 10 ⁻⁴	130	-
BDE-17	C ₁₂ H ₇ OBr ₃	-	-	5.74
BDE-28	C ₁₂ H ₇ OBr ₃	1.64 x 10 ⁻⁵	70	5.94
BDE-47	C ₁₂ H ₆ OBr ₄	1.40 x 10 ⁻⁵	15	6.81
BDE-77	C ₁₂ H ₆ OBr ₄	5.09 x 10 ⁻⁷	6	-
BDE-85	C ₁₂ H ₅ OBr ₅	7.40 x 10 ⁻⁸	6	-
BDE-99	C ₁₂ H ₅ OBr ₅	1.32 x 10 ⁻⁷	9	7.32
BDE-100	C ₁₂ H ₅ OBr ₅	2.15 x 10 ⁻⁷	40	7.24
BDE-138	C ₁₂ H ₄ OBr ₆	1.19 x 10 ⁻⁸	-	-
BDE-153	C ₁₂ H ₄ OBr ₆	1.57 x 10 ⁻⁸	1	7.90
BDE-154	C ₁₂ H ₄ OBr ₆	2.85 x 10 ⁻⁸	1	7.82
BDE-183	C ₁₂ H ₃ OBr ₇	3.51 x 10 ⁻⁹	2	8.27

^a ATSDR (2004). ^b Tittlemier y col. (2002). ^c Braekvelt y col. (2003). - No hay datos reportados

Los PBDEs pueden transportarse a grandes distancias por el aire, ya que son compuestos semivolátiles con puntos de ebullición entre 310 y 425 °C y presiones de vapor bajas a temperatura ambiente, además tienen alta afinidad para enlazarse a partículas, lo cual es reflejado en los altos niveles de éstos en sedimentos, lodos residuales y partículas de polvo, principalmente de los congéneres mas bromados como el BDE-209. Los congéneres con menor número de bromos tienen presiones de vapor más altas, por consiguiente hay una predominancia de congéneres como el BDE-47 y BDE-99 en el aire. Otros congéneres tales como el BDE-153 pueden existir en ambas fases (Alaee y col., 2003; Birnbaum, 2004; Tittlemier y col., 2002; Palm y col., 2002; Ellinger y col., 2003; Darnerud y col., 2001).

El incremento del uso de la mezcla DecaBDE ha aumentado el interés por elucidar el mecanismo de su degradación en relación a la ocurrencia de congéneres menos bromados en muestras biológicas y ambientales, ya que varios estudios han reportado que estos congéneres son más tóxicos y persistentes y se acumulan a mayores tasas y niveles en el hombre y animales. Varios estudios han reportado que el BDE-209 se rompe a congéneres menos bromados (nona a hexaBDEs) en arena, sedimentos y suelo bajo condiciones de laboratorio de luz natural y artificial (Birnbaum y col., 2004; Soederstroem y col., 2004), los productos de degradación

pueden ser más tóxicos que el compuesto original e incluye PBDEs menos bromados, bisfenoles bromados, dibenzodioxinas polibromadas (PBDDs) y dibenzofuranos polibromados (PBDFs). Existen datos que indican que algunos PBDEs son convertidos a PBDDs y PBDFs durante incendios accidentales e incineración y reciclamiento de materiales que los contienen, durante la degradación ambiental (Darnerud y col, 2001; Weber y col, 2003) y durante el uso de algunos productos de consumo a elevadas temperaturas (por ejemplo secadoras de pelo y aparatos de televisión), resultando en la contaminación del aire de interiores (Rahman y col., 2001); hay evidencias limitadas sobre la degradación bacteriana de los PBDEs (Darnerud y col., 2001; Gerecke y col., 2005), un estudio reciente realizado en lodos residuales en Suecia demostró que las bacterias son capaces de degradar el decaBDE a octaBDE y nonaDBE bajo condiciones anaeróbicas. Quizás el punto más interesante de la degradación de congéneres más bromados, es que la composición de los congéneres resultantes no presenta el mismo perfil encontrado en las mezclas comerciales, análisis recientes en peces detectaron cantidades relativamente altas de dos congéneres hepta (BDE181 y 190), los cuales no han sido detectados entre los principales componentes de las mezclas comerciales (Rice y col., 2002).

1.1.4 Ocurrencia y concentraciones

Los PBDEs se han convertido en contaminantes ambientales ubicuos, lo cual se debe en gran parte a sus propiedades fisicoquímicas y a la gran variedad y cantidad de productos de consumo que los contienen, pueden ser liberados al ambiente durante su producción e incorporación a productos, durante el uso y disposición final de los productos que los contienen incluyendo la combustión y el reciclamiento, de esta manera se han difundido en todos los compartimientos ambientales (agua, aire, suelo), a lo largo y ancho de nuestro planeta.

A principios de 1980s un estudio realizado en el Río Viskan de Suecia reportó por primera vez la presencia de PBDEs en peces, con niveles máximos en hígado y

músculo de 110 y 27 mg/kg de lípidos, respectivamente (Andersson y col., 1981). Desde entonces la presencia de PBDEs ha sido reportada en muestras de tejidos humanos (leche, sangre y tejido adiposo) y de animales, así como en alimentos, aire, polvo, suelo, sedimentos, aguas y lodos residuales en los Estados Unidos de América, Canadá, Europa, Japón y regiones remotas como el Ártico, lo cual indica su amplio rango de transporte (Birnbaum, 2004; Alaei y col., 2002; de Wit, 2002; Hale y col., 2003; Stapleton, 2005).

1.1.4.1 Concentraciones en el ambiente

Los niveles de PBDEs en muestras de aire son similares en Suecia, Gran Bretaña, Japón, Estados Unidos de América y Canadá, con bajos niveles en áreas rurales o remotas y altos niveles en áreas urbanas o industriales (Hale y col., 2003). Se ha encontrado que los niveles de PBDEs en el ambiente son más altos cerca de las fuentes industriales, como fábricas productoras de retardantes de flama y recicladoras de equipos electrónicos (de Wit, 2002; Hale y col., 2003; Butt, 2004).

Reportes en la literatura indican la presencia de PBDEs en sedimentos de ríos, estuarios y mares con niveles desde 25 y hasta 11,600 µg/kg de peso seco, siendo el BDE-209 el más abundante (Darnerud, 2001; Hites y col., 2004), la distribución de los congéneres en sedimentos es similar a la de muestras humanas en escenarios ocupacionales. Algunos estudios han detectado PBDEs en efluentes y lodos residuales, las concentraciones en lodos son de 10 a 100 veces más altas en Norteamérica que en Europa (Hale y col., 2001; 2003).

1.1.4.2 Concentraciones en biota

Varios estudios confirman la presencia global de los PBDEs en animales silvestres, incluyendo aves, renos, ratones, peces de agua dulce y salada, camarones, cangrejos, marsopas, focas y ballenas, las concentraciones más altas han sido reportadas en animales de ecosistemas acuáticos y marinos. Los niveles de PBDEs

en grasa de focas de la Bahía de San Francisco están entre los niveles más altos reportados en el mundo con un promedio de 4,950 ng/g de lípidos (She y col., 2002). Las concentraciones en peces varían dependiendo de la especie y de la localidad de muestreo, durante 1992 a 2000 en Norteamérica se han reportado valores que van desde 12.1 a 7,200 ng/g de lípidos, en general los peces de Estados Unidos de América presentan niveles promedios 10 veces más altos (1,050 ng/g de lípidos) que los europeos (120 ng/g de lípidos). El incremento exponencial de los niveles de PBDEs en biota indican que sus concentraciones se están duplicando en promedio cada 4 a 6 años (Hites, 2004).

1.1.4.3 Concentraciones y rutas de exposición humana

Diferentes investigadores han registrado un aumento de los PBDEs en tejidos humanos, sin embargo las fuentes y rutas de exposición han sido poco caracterizadas, las rutas potenciales de exposición son la inhalación de partículas contaminadas o la ingesta de alimentos contaminados (Schechter y col., 2003; Janssen, 2005). Algunos estudios indican que se pueden evaporar desde productos de consumo y depositarse sobre las partículas de polvo que son ingeridas o inhaladas (Stapleton y col., 2005), en cambio la absorción a través del contacto de la piel con productos electrónicos y textiles es poco probable que contribuya a elevar los niveles en el organismo (Sjödín y col., 2003).

1.1.4.3.1 Ingesta de alimentos

La exposición de PBDEs en humanos a través de la dieta, principalmente por el consumo de pescado y alimentos grasos, es apoyada por los niveles detectados de estos compuestos en peces de aguas dulces (26 a 36,900 µg/kg de lípidos) como lucio, percha y trucha (Darnerud, 2001). También se ha reportado su presencia en grasa de pollo (1.8 a 39 ng/g de lípidos), en leche de vaca (2.5-4.5 µg/kg de grasa), en espinacas, papas y zanahorias (Hites, 2004; Hale y col., 2003; Law y col., 2003; Darnerud, 2001; Ohla y col., 2002). En huevos recolectados cerca de incineradores

de residuos peligrosos y residuos sólidos municipales y tiraderos de residuos e industrias petroleras y químicas, los niveles fluctuaron entre 0.8 y 106 ng/g de lípidos. Para el caso del sitio cercano al Complejo Petroquímico de Coatzacoalcos Veracruz, México el valor promedio fue de 30.8 ng/g de lípidos (Blake, 2005). En un estudio reportado por Schechter y col. (2004) en el cual se cuantificaron 13 congéneres en 30 diferentes alimentos de supermercados de los Estados Unidos de América, las concentraciones más altas que se detectaron fueron en pescados y mariscos (8.5 a 3,078 pg/g de peso húmedo) con cantidades menos significativas en carnes, productos lácteos y huevos, los niveles reportados fueron de 9 a 20 veces más altos que los de Europa (Schechter y col., 2004). Con base en los niveles de PBDEs cuantificados en alimentos se ha estimado que la ingesta diaria de estos compuestos es de 44 a 97 ng/día (Ryan y col., 2001; Bocio y col., 2003). Recientemente otros autores estimaron la ingesta diaria en la población de Estados Unidos de América ajustada por edad y sexo, para los lactantes, para niños de 2 a 5 años y para mujeres adultas, ésta fue de 307, 2.6 y 0.9 ng PBDEs/kg peso/día, respectivamente (Schechter y col., 2004 y 2006).

1.1.4.3.2 Inhalación e ingesta de polvos

Otra ruta potencial de exposición humana es la inhalación e ingesta de polvos, numerosos estudios han demostrado la presencia de PBDEs en partículas de polvo de interiores, donde la degradación ambiental y dispersión son mínimas (Stapleton y col., 2005; Butt y col., 2004; Santillo y col., 2001; Wilford y col., 2004; Rudel y col., 2003; McPherson, 2004). Como la mayoría de los productos que contienen PBDEs se encuentran en casas y oficinas, no es sorprendente que los niveles en ambientes interiores sean de 1.5 a 50 veces más altos que los de ambientes exteriores (Butt y col., 2004; Wilford y col., 2004). Un estudio de la EPA midió PBDEs en polvo de casas y encontró concentraciones de 700 a 30,100 ng/g en todas las muestras analizadas, al igual que en otros estudios el BDE-209 presentó las concentraciones más altas (162 a 8,750 ng/g), estas concentraciones son 10 veces superiores a la de polvos de interiores reportados en sitios de la Unión Europea (Stapleton y col., 2005).

Respecto a los niveles de PBDEs en aire, algunos estudios han reportado concentraciones en aire de exteriores de 5 a 300 pg/m^3 con los mayores niveles detectados en ciudades, por otro lado, los niveles máximos medidos en aire de interiores son de alrededor de 1,800 pg/m^3 , aunque en algunos escenarios ocupacionales se han reportado niveles de hasta 67,000 pg/m^3 con predominancia del BDE-209 (Hites y col., 2004).

1.1.4.3.3 Exposición ocupacional

Una serie de estudios han evaluado la exposición ocupacional a PBDEs en Suecia, los valores promedio en suero fueron de 37, 7.3 y 5.4 pmol/g de lípidos en los trabajadores de una planta desmanteladora, en empleados de computación y en los trabajadores de un hospital, respectivamente. Los trabajadores de la desmanteladora presentaron los niveles más altos de BDE-183 y de BDE-209 (Sjodin y col., 1999). Un estudio de seguimiento encontró que los niveles de PBDEs principalmente de los congéneres más bromados, en trabajadores de una planta recicladora, disminuyeron después de cambios estructurales en la planta y mejoras en las rutinas de higiene (Thuresson, 2004). Se encontró que los niveles en suero de BDE-153, BDE-183 y BDE-209 de técnicos que reparan computadoras, fueron 5 veces más altos que los de empleados de computación y de un hospital, además se observó una correlación positiva de algunos congéneres con la duración del trabajo y consumo de pescado (Jakobsson y col., 2002). En otro estudio se examinó la exposición al DecaBDE en una planta productora de caucho y en una manufacturera de cables eléctricos, los valores de la mediana del BDE-209 en los trabajadores y en el grupo de referencia fueron de 35 y 2.4 ng/g de lípidos, respectivamente, los niveles de BDE-47, BDE-100 y BDE-153 fueron similares, mientras que los congéneres octa y nonaBDEs fueron más altos en los trabajadores de la planta de caucho, este estudio reporta la concentración más alta conocida del BDE-209 en humanos, que es de 270 ng/g de lípidos (Thuresson y col., 2005).

1.1.4.3.4 Exposición no ocupacional

Varios investigadores han determinado los niveles de PBDEs en poblaciones ocupacionalmente no expuestas. Un estudio detectó que los niveles en leche de mujeres suecas entre 1972 y 1997, aumentaron de 0.07 a 4 ng/g de lípidos (Meironyte y col., 1999), mediciones posteriores revelaron un rápido incremento de estos niveles, los cuales se duplicaron cada 5 años (Alaee y col., 2002) y entre 1998 y 2000 se estabilizaron, como consecuencia a que Suecia prohibió la producción y uso del PentaBDE. En contraste, en Norteamérica los niveles continúan aumentando y han sobrepasado los valores más altos medidos en Europa, un estudio reportó que la concentración media de PBDEs en muestras de leche de mujeres de Canadá entre 1992 a 2002 aumentó de 3.0 a 25 ng/g de lípidos (Ryan y col., 2002); por otro lado las concentraciones en los Estados Unidos de América varían ampliamente, dos estudios recientes reportaron niveles de 9.5 a 1,078 ng/g de lípidos y de 6.2 a 419 ng/g de lípidos en leche de mujeres, además se detectaron niveles de BDE-209 superiores a 8 ng/g de lípidos en el 30% de las muestras monitoreadas (Lunder y col., 2003; Schechter y col., 2003). Comparativamente, los niveles promedio de PBDEs en muestras contemporáneas de leche de mujeres de Suecia, Japón, Canadá y Estados Unidos de América son de 3.2; 1.4; 25 y 41 ng/g de lípidos, respectivamente (Ryan y col., 2002).

En un estudio en el que se midieron los niveles del congéner BDE-47 en muestras almacenadas de suero de mujeres que vivieron alrededor de 1960 en la Bahía de San Francisco, Estados Unidos de América y en muestras de suero de mujeres que vivían en esa misma bahía pero entre 1997 y 1999, se observó que las mujeres californianas de la década de los sesenta presentaron niveles no detectables de este compuesto, mientras que las concentraciones de las mujeres contemporáneas fueron de 5 a 510 ng/g de lípidos con un valor promedio de 50.6 ng/g de lípidos. Otro estudio encontró que los niveles promedio de PBDEs en suero de estadounidenses entre 1985 y 1999 aumentaron de 9.6 a 71 ng/g de lípidos con predominancia del

congéner BDE-47 (Petreas y col., 2002, 2003; Sjodin y col., 2004). Pocos estudios han medido PBDEs en poblaciones inmigrantes, un estudio reciente reportó en sangre de mujeres embarazadas que viven en una comunidad agrícola en California, Estados Unidos de América, niveles promedio de 21 ng/g de lípidos con un intervalo de 5.3 a 320 ng/g de lípidos con predominancia del BDE-47 (Bradman y col., 2007).

Se ha demostrado que los PBDEs pueden acumularse en el feto humano, un estudio realizado en Indiana midió los niveles en sangre de cordón umbilical y encontró valores semejantes en neonatos y en madres en el intervalo de 14 a 460 y de 15 a 580 ng/g de lípidos, respectivamente (Mazdai y col., 2003), estos niveles son hasta 100 veces más altos a los reportados en un estudio similar en Suecia (Meironyte y col., 2003). Si los PBDEs son transferidos de manera eficiente a través de la leche como a través de la placenta, tanto fetos como infantes podrían estar expuestos a niveles potencialmente más altos en etapas críticas de su desarrollo.

Son escasos los reportes en la literatura sobre los niveles de exposición a PBDEs en niños, un estudio que evaluó la tendencia con respecto al tiempo y la influencia de la edad y el sexo en los niveles de RFBs en muestras de suero humano de una población de Noruega, reportó que los niveles de PBDEs aumentaron de 0.44 ng/g de lípidos en 1977 a 3.3 ng/g de lípidos en 1999, los niveles fueron relativamente similares en los diferentes grupos de edad de 4 a 14 años y de más de 60 años (2.6 a 5.3 ng/g de lípidos) excepto para el grupo de edad de 0 a 4 años, el cual presentó los niveles más altos (11.7 ng/g de lípidos). Por otro lado las mujeres mayores de 25 años presentaron niveles promedio de 2.7 ng/g de lípidos mientras que el valor promedio en hombres del mismo grupo de edad fue de 4.8 ng/g de lípidos. (Thomsen y col., 2002). Un estudio de cohorte realizado en las Islas Faroe en mujeres embarazadas (1994/1995) y en sus hijos a los 7 años de edad (2000-2001), reportó valores promedio de 5.3 y 5.7 ng/g de lípido respectivamente, estos no fueron estadísticamente diferentes y no se encontró una correlación significativa entre madre e hijo. El BDE-47 prevaleció en el suero materno mientras que el BDE-153 en el suero de los niños, no hay una explicación clara a este cambio en el perfil de

acumulación, además las concentraciones en suero materno fueron similares al valor promedio (4 ng/g de lípidos) reportado en leche de las mismas mujeres (Fangstrom y col., 2005).

La Fundación Mundial de Vida Silvestre (WWF por sus siglas en inglés), analizó 104 diferentes sustancias químicas en sangre de los integrantes de siete familias que viven en Inglaterra, Escocia y Gales, el estudio incluyó 14 niños, 13 padres y 6 abuelas, entre 9 y 88 años de edad. Se midieron 30 congéneres de PBDEs y los niveles reportados fueron de 0.7 a 163.9 ng/g de lípidos con una mediana de 14.9 ng/g de lípidos, los congéneres predominantes fueron el BDE47, BDE-100, BDE-153, BDE-209 y BDE-99; la concentración más alta fue detectada en una de las madres y de los 14 siguientes valores, 9 correspondieron a los hijos y 5 a los padres (WWF, 2004).

Recientemente, investigadores determinaron las concentraciones de PBDEs en muestras de suero de una familia de California, Estados Unidos de América durante dos períodos de muestreo, los resultados fueron similares en ambos muestreos, para cada uno de los integrantes de la familia, los valores promedio fueron de 69, 130, 245 y 461 ng/g de lípidos en el padre de 35 años, la madre de 36 años, la hija de 5 años y el hijo de 18 meses de edad respectivamente, los niveles en los niños fueron de 2 a 5 veces más altos que el de los padres (Fischer y col., 2006), con lo que se demuestra que los niños pequeños están más expuestos que los adultos.

Faldt E., y col. (2005) encontraron que la sumatoria de los congéneres BDEs 47, 99, 100 y 153, en el suero de adolescentes nicaragüenses que viven dentro de un sitio de disposición de residuos industriales y domésticos y que trabajan en él, fue mayor (578 ng/g de lípidos), que la cuantificada en adolescentes que viven en un área cercana al basurero y trabajan en él (66 ng/g de lípidos) y que los viven en un área cercana al basurero y no trabajan en mismo (10.5 ng/g de lípidos).

Son escasos los estudios en los cuales se ha determinado la vida media de los PBDEs en humanos, los congéneres menos bromados tales como el BDE-47, BDE-99, BDE-100 y BDE-154 tienen una vida media estimada de 2 a 3 años, el BDE-153 de 4 a 6 años; por otro lado los congéneres más bromados deca, nona y octaBDEs presentan tiempos de vida media en suero humano más cortos, de 11 a 18, 18 a 39, y 37 a 91 días, respectivamente (Geyer y col., 2004; Thuresson y col., 2006).

1.1.5 Toxicocinética

Los estudios toxicocinéticos de PBDES son muy limitados, los datos disponibles han sido obtenidos en modelos animales y no existen estudios en humanos. En general el comportamiento toxicocinético de los PBDEs ha demostrado diferencias entre especies, sexo, edad y congéneres individuales (ATSDR, 2003).

1.1.5.1 Absorción

Algunos estudios en roedores han demostrado que la absorción gastrointestinal del decaBDE es alrededor del 10% o menor (Klasson y col., 2001; Morck y col., 2001; Norris y col., 1973, 1975). En ensayos experimentales se administraron dosis orales de las mezclas comerciales PentaBDE y OctaBDE a roedores y se examinaron 6 y 8 congéneres respectivamente; en la mezcla PentaBDE, la absorción de los congéneres pentaBDEs fue del 44.3% y para los demás congéneres tetra- a hexaBDEs fue entre el 84.3 y el 92.4%; y en la mezcla OctaBDE para los congéneres hexaBDEs fue del 84.2 al 95.1%, para los heptaBDEs del 68.5 al 79.1% y para los octaBDEs del 55.7 al 83.3% (Hakk y col., 2001; Huwe y col., 2002). Respecto a la absorción de los congéneres individuales, algunos estudios reportaron que ratas expuestas a dosis orales únicas del BDE-209 absorbieron alrededor del 10% de la dosis administrada (Morck y col., 2003), que la absorción del congéner BDE-47 después de su administración oral a roedores fue de 93 a 95% (Örn y col., 1998). En otro estudio en el cual se administraron dosis únicas por vía oral, intraperitoneal, dérmica e intratraqueal del BDE-47 a ratones hembra; se observó que la absorción

del BDE-47 fue del 80% cuando se administró por las vía oral e intratraqueal y del 62% después de una exposición dérmica (Staskal y col., 2005, 2004). En un estudio en el que se administraron a ratas, dosis orales únicas del BDE-154, los resultados demostraron que al menos el 56% fue absorbido (Hakk y col., 2005). En general, los estudios en animales han encontrado que la absorción del decaBDE es pobre mientras que los PBDEs menos bromados son eficientemente absorbidos. Sin embargo, es importante resaltar que recientemente se reportó una absorción superior al 80% del BDE-209 en focas grises que fueron dosificadas por varios meses con arenques (Thomas G.O. y col., 2005).

1.1.5.2 Distribución

El análisis de los tejidos de ratas expuestas a la inhalación de polvos conteniendo OctaBDE, indican que las concentraciones de bromo en pulmones, tejido adiposo e hígado fueron significativamente altas. Reportes en la literatura han demostrado que más del 10% de la dosis administrada por vía oral del DecaBDE a ratas, son retenidas en órganos y tejidos, los niveles más altos fueron detectados en plasma e hígado y las concentraciones más bajas en tejido adiposo, además se observó una tendencia en las ratas alimentadas con dosis menores, de retener mayor cantidad del compuesto en los tejidos (Norris y col., 1975; Klasson y col., 2001; Morck y col., 2001, 2003). En un estudio en el cual se administró una dosis oral única del congéner BDE-209 a ratas, las concentraciones más altas fueron detectadas en plasma y tejidos ricos en sangre (glándula adrenal, riñones, corazón e hígado) y las más bajas en el tejido adiposo (Morck y col., 2003). En estudios realizados con las mezclas PentaBDE y OctaBDE se reportó que los patrones de distribución de los congéneres analizados en el hígado y otros tejidos no fue preferencial y que la acumulación en los tejidos generalmente disminuyó con el incremento de la brominación (Hakk y col., 2001; Huwe y col., 2002). En un estudio realizado en roedores se reportó que después de la exposición oral al BDE-47, este se distribuyó en hígado, pulmones, riñones y tejido adiposo; en ratas la concentración más alta fue detectada en tejido adiposo (de 3 a 5 veces mayor), seguida de la encontrada en los

pulmones, la cual fue aproximadamente el doble a la cuantificada en el hígado y riñón; en ratones los tejidos lipídicos presentaron los niveles más altos (Örn y col., 1998). En otro estudio en el que se administraron dosis únicas por vía oral, intraperitoneal, dérmica e intratraqueal del BDE-47 a ratones hembra, su distribución fue similar independientemente de la vía de exposición y dependiente de la lipofilicidad de los tejidos (Staskal y col., 2004, 2005). En un estudio en el cual se administró a ratas, una dosis única del BDE-154, se observó que este congéner se distribuyó principalmente en tejidos lipofílicos, como el tracto gastrointestinal, glándula adrenal, piel e hígado (Hakk y col., 2005). Otro estudio en el cual se administró por vía oral dosis múltiples del BDE-47 en ratones hembra, detectó una mayor retención de este congéner en los tejidos lipídicos y el patrón de distribución fue similar a la de una dosis única; cinco días después de la última administración, la concentración más alta fue detectada en tejido adiposo, seguida por piel, músculo, hígado, pulmones, cerebro, sangre y riñones; en general las concentraciones detectadas fueron 8 veces mas grandes que las cuantificadas después de la administración oral de una dosis única (Staskal y col., 2006). Un estudio el cual evaluó la exposición a una dosis oral única del BDE-47 en ratones recién nacidos, demostró que la toxicocinética del BDE-47 es diferente en ratones de diez días de nacidos que en ratones adultos, aunque los patrones de distribución en los tejidos fueron similares a las de otros estudios, las concentraciones del BDE-47 en tejido adiposo, sangre, cerebro, riñones, músculo y piel fueron mayores en los recién nacidos, mientras que no hubo diferencias entre ambos grupos en las concentraciones en pulmón e hígado, la tendencia de las concentraciones detectadas en cerebro fueron de particular interés, ya que las concentraciones en el primer día fueron inferiores a las de los adultos, sin embargo en el día 10 las concentraciones en el cerebro de los ratones recién nacidos fueron mas altas (Staskal y col., 2006). En otro estudio en el cual se administró una dosis única por vía intravenosa (1mg/kg), de los congéneres BDEs 47, 99, 100 y 153 a ratones hembra, se observó que todos los congéneres se distribuyeron con patrones similares en los tejidos lipofílicos, sin embargo cinco días después de la administración, las concentraciones fueron mucho más altas para el BDE-153 que para los BDEs 100,

99 y 47, demostrando que el patrón de sustitución de los átomos de bromo en los diferentes congéneres juega un papel importante en la distribución de los PBDEs (Staskal y col., 2006).

1.1.5.3 Metabolismo

Estudios realizados en ratas, las cuales fueron expuestas al decaBDE, reportaron que alrededor del 90% de la dosis excretada en heces fueron metabolitos fenólicos y neutrales (65% de la dosis administrada), el decaBDE fue el principal componente de la fracción neutral, pero cantidades trazas de 3 nonaBDEs también fueron detectadas. Los mecanismos por los cuales la debrominación del decaBDE produce metabolitos metoxi e hidroxil penta a heptaBDEs no es claro, se cree que tras la debrominación del decaBDE ocurre la sustitución metabólica de grupos metoxi e hidroxil (Norris y col., 1975; Klasson y col., 2001; Morck y col., 2001, 2003). En un estudio en el cual se administraron dosis únicas del congéner BDE-209 a ratas, se encontró que la excreción en bilis fue cerca del 10% de la dosis administrada, se detectaron metabolitos hidroxilados y metoxilados de penta- a heptaBDEs, además de trazas de nonaBDES, los metabolitos no conjugados detectados en el hígado fueron 4% fenólicos y 26% neutrales, éstos últimos fueron principalmente el compuesto original y trazas de nonaBDEs y alrededor del 65% excretado en heces fueron metabolitos. El metabolismo y distribución del BDE-209 en ratas es diferente al de los congéneres menos bromados, ya que es ampliamente metabolizado, marginalmente distribuido en tejido adiposo y por lo tanto, rápidamente excretado, indicando que el metabolismo parece estar correlacionado positivamente con el grado de brominación (Morck y col., 2003). En un estudio se encontró que las heces de ratas expuestas al BDE-99, contenían principalmente al compuesto original (más del 90%) y solo el 10% eran metabolitos, los cuales no fueron identificados en su totalidad y en la bilis se detectaron metabolitos hidroxilados y tioles pentaBDEs pero no se encontraron glucurónidos o sulfatos conjugados (Hakk y col., 1999, 2002). En ratas expuestas al BDE-47 se encontró que las heces contenían el 85% del compuesto original y 6 metabolitos hidroxil tetraBDEs y trazas de tioles tetraBDEs, en

cambio en ratones, alrededor del 70% excretado en heces fueron metabolitos y el 20% del compuesto original se eliminó por orina. En ambas especies y en todos los tejidos analizados, el compuesto original fue el principal compuesto detectado, y en menor proporción los metabolitos hidroxilo tetraBDES (Örn y col., 1998). En un estudio en el cual se administró a ratas una dosis oral única del BDE-154, se detectó en heces la presencia de metabolitos polares y no polares, los metabolitos polares contenían grupos hidroxilo y un menor número de átomos de bromo (Hakk y col., 2005). En otro estudio se administró una dosis intravenosa única de los congéneres BDEs 47, 99, 100 y 153 a ratones hembra, los autores reportaron tasas bajas de metabolismo y el análisis de los metabolitos en las heces reveló que el BDE-99 fue el congénere con una velocidad alta de metabolismo (Staskal y col., 2006). Además hay evidencia de que el metabolismo de las mezclas OctaBDE y DecaBDE produce congéneres de 5 a 8 átomos de bromo en peces (Birnbaum, 2004; Stapleton y col., 2004), demostrando que los PBDEs más bromados son absorbidos y metabolizados a congéneres con menor número de bromos, los cuales se bioacumulan en mayor proporción y por lo tanto son más tóxicos.

1.1.5.4 Eliminación

Existen estudios en los cuales se ha demostrado que alrededor del 91% del DecaBDE es detectado en heces después de la administración de una dosis única por vía oral a roedores (Klasson y col., 2001; Morck y col., 2001; Norris y col., 1973, 1975). Mientras que otros trabajos en los cuales se administró por vía oral la mezcla PentaBDE, detectaron en heces congéneres pentaBDEs (55.8%) y tetra-hexaBDEs (del 7.6 al 15.8%); la excreción fecal después de la administración de una dosis oral de la mezcla OctaBDE fue del 4.9 al 15.9% para los congéneres hexaBDEs, del 20.9 al 31.5% para los heptaBDEs y del 16.7 al 44.3% para los octaBDEs (Hakk y col., 2001; Huwe y col., 2002). Algunos estudios han evaluado la excreción de congéneres individuales, se ha reportado que del 43 al 86% de la dosis administrada del congénere BDE-99 se eliminó vía heces y del 0.3 al 1% por orina (Hakk y col., 1999, 2002); la eliminación del BDE-47 en ratas fue del 14% en heces y menor al

0.5% en orina, mientras que en ratones fue del 20% por heces y el 33% se eliminó por vía renal (Klasson y col., 1998). En un estudio en el cual se administró una dosis única del congéner BDE-209 a ratas, alrededor del 90% de la dosis administrada se detectó en heces y la excreción urinaria fue menor al 0.1%, mientras que la excreción biliar fue cerca del 10% (Morck y col., 2003). En otro estudio en el cual se administraron dosis únicas por vía oral, intraperitoneal, dérmica e intratraqueal del BDE-47 a ratones hembra, 5 días después de la administración, el 60% de la dosis administrada había sido detectada en heces y orina, mientras que 21 días después el 80% de la dosis había sido eliminada (37% en heces y 42% en orina); además, se observó que a dosis bajas (0.1 mg/kg) el 39% y 34% fue excretado en orina y heces, respectivamente y a dosis altas (100 mg/kg) el 13% se eliminó por orina, mientras que el 51% por heces. Tendencias similares fueron observadas en las demás vías de administración (Staskal y col., 2004, 2005). En un estudio realizado en ratas, las cuales recibieron una dosis única del BDE-154, se observó que la excreción fecal fue la principal vía de eliminación (62% de la dosis se eliminó 3 días después de la administración), no fue fácilmente excretado por vía biliar (1.3%) y solo el 1% fue excretado en la orina (Hakk y col., 2005). Un estudio en ratones los cuales fueron expuestos crónicamente al BDE-47, reportó que después de cinco días de tratamiento el 23% se excretó por vía renal y del 40 al 42% por heces (Staskal y col., 2006); comparando los resultados de este estudio, la excreción renal fue menor al del esquema de dosis únicas (38%), mientras que la excreción en heces fue similar en ambos esquemas. Un estudio evaluó la exposición a una dosis oral única del BDE-47 en ratones de diez días de nacidos, éstos presentaron una capacidad reducida para excretar el BDE-47 en comparación con los adultos (Staskal y col., 2006). En otro estudio en el que se administró una dosis intravenosa única de los congéneres BDEs 47, 99, 100 y 153 a ratones hembra, se observó que el BDE-47 fue rápidamente excretado seguido por los BDEs 99, 100 y 153 (Staskal y col., 2006). Un estudio reportó en ratones los parámetros de excreción urinaria de los congéneres BDEs 47, 99, 100 y 153, se observó que el BDE-47 fue rápidamente excretado por orina (17% en el primer día y el 40% después de cinco días), seguido de los BDEs 99, 100 y 153 (8, 2 y 1% en el primer día y 16, 6 y 2% después de cinco

días, respectivamente), demostrando que hay diferencias en la excreción urinaria entre congéneres y que la mayoría de los congéneres estaban unidos a proteínas (Diliberto y col., 2006).

1.1.6 Toxicidad

La literatura sobre los efectos tóxicos de los RFBs es muy limitada, con base en estudios en modelos experimentales se ha demostrado que los PBDEs están asociados con daño neuroconductual, disrupción de las hormonas tiroideas y para algunos congéneres posiblemente con cáncer. Además existe un gran vacío sobre evidencias de efectos en el desarrollo, disrupción endocrina, inmunotoxicidad, efectos reproductivos y efectos a largo plazo, incluyendo los efectos en segundas generaciones (Birnbaum, 2004; de Wit, 2002; Darnerud, 2003).

1.1.6.1 Efectos carcinogénicos

Solamente el decaBDE ha sido probado para carcinogenicidad, estudios en ratas han demostrado un aumento en los carcinomas hepatocelulares y carcinomas de células foliculares de la tiroides y una relación de la dosis con el aumento de adenomas hepáticos y pancreáticos (Darnerud, 2003); otros estudios han demostrado un incremento en el número de células de la tiroides o hiperplasia, una condición potencialmente pre-cancerígena en ratas y ratones expuestos a PBDEs (Legler y col., 2003). La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasificó al decaBDE como limitada evidencia de un efecto carcinogénico en animales IARC Grupo 2. No esta bien definida la clasificación de la sustancia como carcinogénico humano (IARC, 1990).

1.1.6.2 Efectos reproductivos

Existe poca información disponible sobre efectos reproductivos, roedores expuestos a dosis altas de PentaBDE presentaron retraso en la pubertad acompañado de una

disminución de los niveles de T4, incremento del tamaño del hígado e inducción de enzimas hepáticas (Stoker y col., 2003; Laws y col., 2003; Birnbaum y col., 2004), reportes recientes indican que la exposición fetal a BDE-99 en dosis pequeñas y similares a los niveles de exposición humana actuales, disminuyen la cuenta de espermatozoides, aunque las ratas permanecieron fértiles (Kuriyama y col., 2005).

1.1.6.3 Efectos sobre el sistema inmunológico

Hay limitada información que sugiera que los PBDEs puedan causar supresión del sistema inmune, pruebas estandarizadas de respuesta inmune en ratones expuestos a PentaBDEs provocaron supresión inmune con cambios celulares en órganos críticos para la función inmune como el bazo y timos (Darnerud, 2003).

1.1.6.4 Efectos teratogénicos

Pocos estudios han examinado los efectos teratogénicos de los PBDEs, roedores expuestos a DecaBDE y OctaBDE, mostraron daño fetal aun cuando efectos maternos no fueron observados, dosis relativamente altas de DecaBDE provocaron un retraso en el endurecimiento de los huesos, encorvamiento de huesos y disminución del peso (Darnerud, 2003).

1.1.6.5 Efectos neurológicos

Varios ensayos en animales indican que el sistema nervioso central es un órgano blanco potencial de los PBDEs (Viberg y col., 2002, 2003, 2004, 2005; Eriksson y col., 2001, 2002; Branchi y col., 2005; Kuriyama y col., 2005). En pruebas experimentales en las cuales se administraron dosis de 0.5 a 20.1 mg/kg de congéneres individuales a ratones recién nacidos, se observaron alteraciones en el comportamiento espontáneo y disminución del aprendizaje y memoria diez días después de nacidos, el déficit en el aprendizaje y memoria empeoraron con la edad (Birnbaum y col., 2004; Ericsson y col., 2001). La mayoría de los trabajos se han

enfocado al BDE-99, un estudio de exposición perinatal en ratones hembra reportó una reducción en el número de crías después de la administración de una dosis de 6 mg/kg y un retraso en el desarrollo motor sensorial a dosis de 30 mg/kg. Un estudio similar reportó hiperactividad después de la administración de 60 y 300 µg/kg, éstas son dosis relevantes para los niveles de exposición humana. Un sinergismo entre los polibromados difenil éter (PBDEs) y los bifenilos polibromados (PCBs) en los efectos neurotóxicos fue observado en ratones expuestos a una dosis subtóxica de un PCB con una dosis baja del BDE-99, los ratones empeoraron su desempeño en las pruebas de aprendizaje y memoria, al compararlos cuando solo fueron expuestos al PCB en una dosis 10 veces superior (Ericsson y col., 2003). Los mecanismos de estos efectos conductuales y cognoscitivos son desconocidos, algunos investigadores suponen que están asociados con alteraciones en los receptores colinérgicos y con la estimulación del ácido araquidónico (Viberg y col., 2002, 2003; Birnbaum, 2004); otro posible mecanismo es la disrupción de las hormonas tiroideas, las cuales son esenciales durante todo el proceso de desarrollo del cerebro humano, pequeñas disminuciones de las concentraciones fetales y maternas de estas hormonas pueden causar daños neurológicos, incluyendo una pequeña disminución en el coeficiente intelectual (CI), y aún pequeñas disminuciones clínicamente no aparentes podrían resultar en daño neurológico (Pop y col., 2003; Haddow y col., 1999).

1.1.6.6 Efectos endocrinos

Uno de los puntos más sensibles de la toxicidad de los PBDEs observados en modelos con animales son los efectos sobre la función tiroidea. La tetrayodotironina (tiroxina, T4) y la triyodotironina (T3) son hormonas importantes en la regulación del metabolismo, es conocido que la T4 es esencial en las etapas tempranas del desarrollo del cerebro y en el desarrollo sexual en la definición del sexo, además incrementan las concentraciones de numerosas enzimas involucradas en la producción de energía en el organismo (Weiss, 2006). La síntesis de las hormonas tiroideas se inicia en el retículo endoplásmico rugoso, donde se produce la proteína

globular denominada tiroglobulina la cual contiene residuos de tirosina. El hipotálamo a través de la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) controla a la pituitaria, la cual entonces secreta la hormona tirotrópina u hormona estimulante de la tiroides (TSH), la cual a su vez activa a la glándula tiroides para que se realice la síntesis de las hormonas tiroideas T3 y T4 a partir de yodo y de tirosina; una vez en la sangre, T3 y T4 producen un efecto feedback negativo sobre la función hipotalámica y pituitaria (Schriks, 2006). Es decir, cuando los niveles séricos de las hormonas tiroideas disminuyen, los niveles de TSH aumentan y viceversa. En la figura 2 se muestran las estructuras químicas de las hormonas tiroideas.

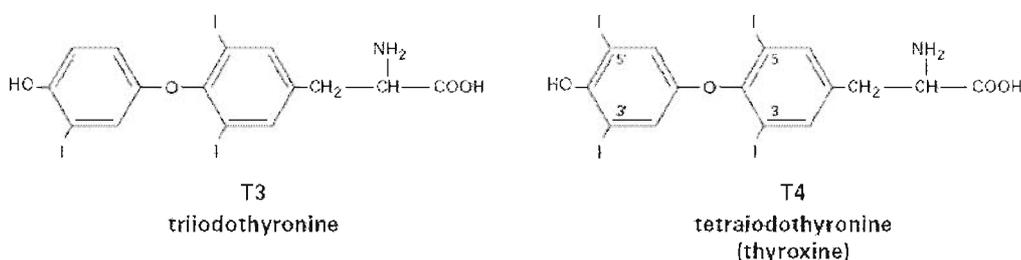


Figura 2. Estructuras de las hormonas tiroideas

Se han descrito tres mecanismos de cómo, contaminantes ambientales como los PBDEs pueden afectar la homeostasis de la tiroides, éstos son alterando: a) la función y regulación de la glándula tiroides, b) el metabolismo de las hormonas tiroideas y c) el mecanismo de transporte de las hormonas tiroideas, (Legler y col., 2003). En el primero, un efecto directo sobre la glándula tiroides podría conducir a la disminución de la síntesis de las hormonas tiroideas, por inhibición del transporte de yodo necesario para la síntesis o por inhibición de la peroxidasa tiroidea. Los estudios sobre los efectos directos de los RFBs en la función y regulación de la glándula tiroides son limitados, la exposición crónica en ratones al decaBDE ha demostrado un incremento en la incidencia de hiperplasia de la tiroides y de tumores. Con respecto a la alteración del metabolismo de las hormonas tiroideas, éste incluye varias rutas como la sulfatación, deiodinación y glucuronidación, hasta ahora no ha sido reportado que los RFBs afecten la deiodinación, en contraste con algunos otros estudios que han reportado que los PBDEs podrían afectar la excreción de las

hormonas tiroideas, por la inducción de enzimas microsomales hepáticas como la Uridin Difosfato Glucoronil transferasa (UDPGT), la cual conjuga T3 y T4 antes de la excreción biliar, y por consiguiente aumentan la excreción de las hormonas en las heces. El tercer mecanismo, es la competencia por la unión a la proteína transportadora transtirretina (TTR) de compuestos con estructuras similares a T4 y T3 (grupo OH en posiciones *meta* o *para* con cloro adyacentes), algunos metabolitos hidroxilados tienen afinidades 10 veces más altas que T4 para unirse a la TTR y esto conduce a una disminución del ligando natural y de los niveles de T4 en plasma (Legler y col., 2003; Weiss, 2006).

Aunado a las investigaciones anteriores existen otros reportes en la literatura, en los cuales también se ha demostrado que los PBDEs alteran la homeostasis del sistema tiroideo, estos estudios se han realizado tanto en modelos animales como en modelos *in vitro*, (Birnbaum, 2004; Zhou y col., 2001, 2002; Zoeller y col., 2002; Hallgren y col., 2001, 2002; Darnerud y col., 2003, 2004; Boas y col., 2006). Un grupo de investigadores reportaron que las mezclas comerciales DE-71 (PentaBDE) y DE-79 (OctaBDE) administradas por vía oral en una dosis de 10 a 300 mg/kg/día a ratas recién destetadas, disminuyeron los niveles de T4 total hasta en un 80% y 70%, respectivamente; además se observó en la progenie de ratas expuestas a la mezcla DE-71 que después de la administración oral de 1 a 30 mg/kg/día desde el sexto día de gestación hasta el día postnatal 21, que éste efecto fue acompañado por un aumento en la inducción de la actividad de la UDPGT, (Zhou y col., 2001, 2002). En contraste otros estudios indican que las hormonas tiroideas solo pueden ser alteradas después de la exposición a dosis altas de PBDEs, por ejemplo los niveles de T4 disminuyeron en ratas después de una administración de 3 mg/kg/día, mientras que los niveles de T3 disminuyeron y los de TSH aumentaron, después de la administración de 30 y 60 mg/kg/día (Stoker y col., 2004). En modelos *in vitro* se ha demostrado que los PBDEs como compuestos padres no compiten con la unión T4-TTR y que solamente sus metabolitos hidroxilados desplazan a la T4 (de Wit, 2002; Darnerud 2003; Meerts y col., 2000). Se ha demostrado que los PBDEs tanto en roedores como en líneas celulares, son capaces de inducir enzimas hepáticas de las

fases I y II como la etoxiresorufina-O-deetilasa (EROD), la pentoxiresorufina-O-despentilasa (PROD) y la uridindifosfato-glucoronosiltransferasa UDPGT, (Zhou y col., 2001,2002; Kuriyama y col., 2004; Boas y col., 2006). Experimentos preliminares han reportado que los PCBs podrían actuar sinérgicamente con los PBDEs para reducir los niveles de hormonas tiroideas (McDonald, 2002).

Algunos estudios han indicado que los RFBs podrían interferir con la síntesis o función de los estrógenos. La actividad puede ser estrogénica o antiestrogénica, ya que algunos PBDEs hidroxilados (con 2 a 4 átomos de bromo) se unen al receptor de la hormona aumentando la expresión de genes regulados por ésta; en cambio, la unión de algunas formas de hexaBDE y heptaBDE a los receptores de estrógeno inhibe la expresión de genes regulados por esta hormona (Legler y col., 2003; Meerts y col., 2001). En otros estudios se ha observado que la exposición a PBDEs inhibe las enzimas que metabolizan estrógenos, interfiriendo indirectamente con la acción de los mismos y como consecuencia se ven aumentados sus niveles (Birnbaum y col., 2004). Otros investigadores han reportado que algunos PBDEs (hexa y heptaBDEs) se enlazan a los receptores Ah con potencias comparables a los PCBs, mientras que los congéneres más abundantes en el ambiente (BDEs 47, 99, y 209), tienen una afinidad muy débil a estos receptores y probablemente no exhiban la toxicidad como-dioxina (Meerts y col., 2001).

Son escasos los estudios sobre los niveles de PBDEs y la función tiroidea en humanos. Un estudio reportó 4 casos de hipotiroidismo (elevada tirotrópina y bajos niveles de T4) en 35 trabajadores de una planta de fabricación de PBD-209 y BDE-209, sin embargo no pudo determinarse si fue resultado de la exposición a PBDEs, PBBs, o a la combinación de ambos (Bahn y col., 1980; Darnerud, 2003). Un estudio realizado en Suecia, en el mar Báltico encontró una correlación negativa significativa entre los niveles de TSH y las concentraciones séricas de BDE47 (de 0.2 a 11.7 pmol/g de lípidos) en 110 hombres que consumen frecuentemente pescado (Hagmar y col., 2001). En un estudio perinatal, no se encontró una correlación entre los niveles de PBDEs y hormonas tiroideas en 12 pares de muestras de sangre de

cordón fetal y maternal, lo cual podría ser debido al pequeño tamaño de la muestra (Mazdai y col., 2003). En un estudio reciente en el que se determinaron las concentraciones de PBDEs y los niveles de las hormonas tiroideas T4L, T3L y TSH, durante un año y medio en 11 trabajadores de una planta recicladora de electrónicos, se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre los niveles de T3 y BDE-183 en un trabajador, en los niveles de T4 y BDE-28 y BDE100 en otro trabajador, y en los niveles de TSH y BDE-99 y BDE-154 en dos trabajadores más; los niveles de las hormonas tiroideas estuvieron dentro de los rangos fisiológicos, los niveles de PBDEs en plasma durante el estudio no fueron constantes y se observó una tendencia hacia el aumento de los niveles de T4 con respecto al tiempo, pero los cambios fueron pequeños y no significativos (Julander y col., 2005; Boas y col., 2006).

1.1.7 Márgenes de seguridad y dosis de referencia

Weiss (2006), realizó una estimación preliminar de riesgo a la salud por la exposición a PBDEs y calculó los márgenes de seguridad para niños recién nacidos asumiendo un peso de 3.6 Kg con una ingesta diaria de 800 mL de leche humana con un contenido de lípidos del 4%. Considerando el nivel promedio y el máximo de PBDEs en leche de mujeres europeas (2.7 y 70 ng/g de lípidos) y de estadounidenses (50 y 300 ng/g de lípidos), el cálculo estimado para la ingesta diaria (EDIs) fue de 86 a 2240 ng/día para infantes europeos y de 1,600 a 9,600 ng/día para norteamericanos. De acuerdo a estos EDIs y a los NOAELs (nivel de efecto adverso no observado) de los congéneres BDE-47 y BDE-99 para efectos neurotóxicos en roedores (0.7 y 0.4 mg/Kg de peso), los márgenes de seguridad calculados para infantes europeos fueron de 1,100 a 30×10^3 para el BDE-47 y de 660 a 17×10^3 para el BDE-99; y para los infantes norteamericanos fueron de 260 a 1,600 para el BDE-47 y de 150 a 900 para el BDE-99. Todos los márgenes de seguridad calculados estuvieron por arriba del margen de seguridad de referencia (175), excepto el del BDE-99 para los infantes norteamericanos en el nivel de exposición de 300 ng/g de lípidos. Considerando que el 5% de las mujeres estadounidenses presentan niveles en leche

mayores a 300 ng/g de lípidos, los infantes de este país podrían estar expuestos a niveles de PBDEs críticos. A pesar de ello se considera que el seno materno tiene mayores beneficios que los posibles riesgos a la salud por la exposición a estos contaminantes (Weiss, 2006).

La base de datos del sistema de Información de Riesgo Integrado (IRIS) de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA), con base en estudios experimentales en animales, publicó una dosis de referencia oral (RfD) para el decaBDE de 0.01 mg/kg/día para efectos adversos no observados, para el octaBDE de 0.003 mg/kg/día para la inducción de enzimas hepáticas y para el pentaBDE de 0.002 mg/kg/día para la inducción de enzimas hepáticas. Recientemente el Centro Nacional de Evaluación Ambiental de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA) con base en estudios experimentales en modelos animales publicó una dosis de referencia oral (RfD) para el BDE-47 y BDE99 de 0.1 µg/kg-día para efectos sobre el comportamiento motor espontáneo en ratones, para el BDE-153 de 0.2 µg/kg-día para efectos sobre el comportamiento motor espontáneo, capacidad de aprendizaje y memoria en ratones y para el BDE-209 de 7 µg/kg-día para efectos neuroconductuales (Viberg y col., 2002).

1.1.8 Escenario de exposición a PBDEs en México

Los PBDEs no son fabricados en México, pero son incorporados a una gran variedad de productos de consumo humano por empresas automotrices, electrónicas, textiles y de la construcción; respecto a la industria electrónica, en la parte norte de nuestro país se encuentran ubicadas las empresas más importantes de fabricación de equipo de audio y video, en la parte centro las de telecomunicaciones y en la parte occidente las de equipo de cómputo. Por lo que un importante porcentaje de productos que contienen PBDEs están siendo utilizados en nuestro país. Una vez que el ciclo de vida útil de estos productos termina son desechados en sitios de disposición de residuos, los cuales en la mayoría de los casos no cumplen con la normatividad correspondiente. Por otro lado, la basura electrónica que se genera en los países

desarrollados, es exportada de manera ilegal a países en desarrollo como el nuestro, como equipos de segunda mano, como desperdicios electrónicos y/o como donaciones.

En un estudio preliminar realizado en el Departamento de Toxicología Ambiental de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luís Potosí, se demostró la presencia de PBDEs en plasma de mujeres que viven en la ciudad de San Luís Potosí y en leche de mujeres indígenas que viven en una zona rural de la Huasteca Potosina, las concentraciones promedio detectadas para la sumatoria de PBDEs fueron de 29.1 y de 4.4 ng/g de lípidos, respectivamente (López y col., 2004). Este estudio fue el primer antecedente generado de exposición a bromados en nuestro país.

Actualmente el Instituto Nacional de Ecología (INE) en coordinación con la Universidad Autónoma de San Luís Potosí (UASLP) llevan a cabo el proyecto denominado "Exposición a compuestos polibromados y metales en comunidades pepenadoras y niveles en alimentos de basura electrónica en México", cuyo objetivo general es obtener un diagnóstico inicial respecto a la contaminación por compuestos polibromados (retardantes de flama) en alimentos y comunidades pepenadoras en México. Los sitios de disposición de residuos que están siendo estudiados son los de Coacalco y Bordo Poniente, Estado de México; el de la ciudad de San Luís Potosí; el de El Salto, Jalisco y el de Ciudad Juárez, Chihuahua. Los primeros resultados obtenidos en suero de niños residentes de San Luís Potosí y El Refugio, S.L.P. y de Ciudad Juárez, Chih. muestran valores de la mediana de 3.09, 6.98 y 9.55 ng/g de lípidos de la sumatoria de PBDEs, respectivamente (Martínez, 2007). Respecto a los alimentos, se están analizando muestras de leche de vaca pasteurizada, provenientes de 11 ciudades diferentes de la República Mexicana y de atún enlatado de empacadoras del Pacífico mexicano.

1.2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Los PBDEs se han convertido en contaminantes ubicuos, debido a que pueden ser liberados al ambiente durante su producción, su incorporación a una gran variedad de productos de consumo humano, durante el uso, disposición y/o reciclaje de los mismos; provocando una importante contaminación del aire, suelo, cuerpos de agua y biota. Aunado a lo anterior, por sus propiedades lipofílicas y su alta persistencia en el ambiente pueden bioacumularse en los tejidos de los seres vivos, incorporándose a la cadena trófica. Por ser semivolátiles pueden transportarse a grandes distancias, encontrándose inclusive en sitios donde no se producen. En las últimas tres décadas los niveles de estos compuestos han aumentado alrededor de 100 veces en tejidos humanos y sus niveles se están aproximando rápidamente a los valores asociados con efectos adversos observados en roedores (Birnbaum, 2004; Hites, 2004). En México no existe un registro de la cantidad de PBDEs utilizados, no obstante que productos conteniéndolos tales como aparatos electrónicos y automóviles entre otros, están incrementando su producción, uso y residuos en nuestro país. Dada la manipulación que se realiza de los residuos en los tiraderos municipales, los niveles de los PBDEs liberados al ambiente en este escenario podrían ser mayores en comparación a otros sitios de exposición y la población que trabaja y/o vive cerca de éstos podría presentar niveles séricos más altos. La población infantil es más vulnerable a los efectos de las sustancias tóxicas, ya que las dosis que reciben son más altas en relación al peso de su cuerpo en comparación con los adultos, a que durante su desarrollo sufren cambios rápidos y complejos dentro de un periodo de tiempo relativamente corto y debido a sus patrones de comportamiento. En México, solo se cuenta con los resultados preliminares de exposición infantil a estos contaminantes reportados por Martínez (2007).

Debido a lo anterior, se diseñó el presente trabajo, el cual forma parte de un Programa de investigación de polibromados que se realiza en el Departamento de Toxicología Ambiental de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de

San Luís Potosí en coordinación con el Instituto Nacional de Ecología. El objetivo general del presente proyecto de investigación, fue determinar los niveles de PBDEs en sangre de niños que viven en áreas cercanas a sitios de disposición de residuos.

Con los siguientes objetivos particulares:

- 1) Validar los métodos instrumental y analítico para la determinación de PBDEs en suero humano por Cromatografía de gases/Espectrometría de Masa (CG/MS).
- 2) Cuantificar los niveles de BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154 y BDE-209 en suero de niños de tres localidades cercanas a sitios de disposición de residuos y de una zona agrícola en México.
- 3) Cuantificar por inmunoensayo los niveles séricos de las hormonas triyodotironina libre (T3 libre), tiroxina libre (T4 libre) y tirotropina (hormona estimulante de la tiroides, TSH) de los niños seleccionados de las cuatro localidades.
- 4) Determinar la asociación entre las concentraciones séricas de los polibromados difenil éter y los niveles de hormonas tiroideas en la población infantil seleccionada.
- 5) Determinar la asociación entre los niveles de polibromados difenil éter y las diferentes variables sociodemográficas (edad, sexo, tiempo de residencia en la localidad y tiempo de lactancia, entre otras) y los factores de riesgo (tabaquismo pasivo, trabajan en el tiradero de residuos, horas clase de computación, número de aparatos electrónicos y consumo de alimentos de origen animal, entre otros).

II. METODOLOGÍA

2.1 Selección y descripción de las zonas de estudio

El criterio para la selección de los sitios de estudio, fue que hubiese una población alrededor de 1 a 2 km de un tiradero de residuos municipales, urbanos o rurales. Con base en este criterio se seleccionaron los siguientes sitios: Milpillas, San Luís Potosí (Tiradero Municipal “El Peñasco”); San Juan Tilapa, Estado de México; y ciudad de Chihuahua, Chihuahua (zona conurbana). Además se incluyó un sitio de una zona agrícola: El Refugio, Ciudad Fernández, San Luís Potosí.

2.1.1 Milpillas

Milpillas se localiza aproximadamente a 30 km de la ciudad de San Luís Potosí, cuenta con una población de 1,056 habitantes, es una localidad clasificada en la categoría de “alta marginación” (CONAPO, 2000). De acuerdo al Consejo Nacional de Población (CONAPO) en esta localidad el 82% de la población no es derechohabiente del IMSS y/o ISSSTE, el 9% de los niños de 6 a 9 años no asiste a la escuela, el 68% de la población de 15 años en adelante solo estudió la Primaria, el 73% de las viviendas no cuentan con drenaje, el 63% carecen de agua entubada, el 43% tienen techos y paredes de materiales ligeros, naturales o precarios, el 0.83% de la población vive en hacinamiento y el 83% tiene un ingreso no mayor a 2 salarios mínimos.

En Milpillas se encuentra un tiradero de residuos municipales denominado “El Peñasco” que abarca una superficie de 6 hectáreas. Los residuos que llegan a este sitio son principalmente de tipo orgánico y en algunas ocasiones también se desechan residuos electrónicos, una estimación indica que podrían ser entre 800 a 850 toneladas diarias. Algunos adultos y niños de la localidad realizan actividades de pepena, en las cuales separan principalmente productos electrónicos y plásticos. En el basurero se han presentado varios incendios, el riesgo de éstos es que de acuerdo

a estudios realizados por algunas instituciones como la FAO, CEPIS/GTZ y OPS durante los mismos, además de la generación de metano y dióxido de carbono, pueden liberarse al ambiente metales y metaloides, hidrocarburos aromáticos policíclicos, dioxinas y furanos, partículas suspendidas, monóxido de carbono, gases de azufre y nitrógeno y compuestos bromados (FAO, 1994; CEPIS/GTZ, 1992; OPS, 1992).

2.1.2 San Juan Tilapa

San Juan Tilapa pertenece al municipio de Toluca, está situada en la zona centro del Estado de México. Se localiza aproximadamente a 6 kilómetros al sureste de la ciudad de Toluca. Cuenta con una población de 7,205 habitantes (INEGI, 2000); de los cuales 3,568 son hombres (49.5%) y 3,637 (50.5%) son mujeres. Tiene una ocupación por vivienda de entre 4.6 y 5.8 habitantes. Entre las enfermedades más importantes que se reportan en la comunidad, se encuentra la enteritis, parasitosis y otras enfermedades diarreicas, amigdalitis, cervicovaginitis, infecciones de vías urinarias, rinofaringitis, bronquitis, infecciones de la piel y conjuntivitis.

Alrededor de San Juan Tilapa se disponen los residuos sólidos generados por la población urbana del municipio y algunos estudios han estimado que diariamente se generan alrededor de 1,500 toneladas. Los residuos principalmente son plásticos del tipo pet, cartón, vidrio, residuos alimenticios y otros como cuero, aluminio, algodón, plásticos rígidos, plástico de película, materiales ferrosos, materiales y residuos de la construcción, madera y residuos de jardinería entre otros (MORSA, Construcciones y Perforaciones, S.A. de C.V.; 2005).

2.1.3 Ciudad de Chihuahua (zona conurbana)

La ciudad de Chihuahua se localiza entre parte de la Sierra Madre Occidental y extensas llanuras, así como el desierto de Chihuahua. Tiene un grado de marginación bajo (CONAPO, 2000).

A 2 kilómetros aproximadamente de la ciudad de Chihuahua, se localiza un tiradero a cielo abierto de residuos sólidos municipales, alrededor de él, se ubican las colonias Rancho Guadalupe y Valles de Chihuahua y la granja Hogar de niños “Casa Misericordia”, la cual cuenta con 220 niños. El nivel socioeconómico de los residentes de estas colonias es bajo, la mayoría de los hombres trabajan como albañiles y en maquiladoras, mientras que las mujeres son trabajadoras domésticas o empleadas de maquiladoras.

No se cuenta con información sobre la cantidad y tipo de residuos que se disponen en este sitio. Los camiones recolectores tiran la basura en fosas y la van cubriendo en niveles.

2.1.4 El Refugio

El Refugio forma parte de las 33 localidades con las cuales consta el municipio de Ciudad Fernández, San Luís Potosí, éste cuenta con una población de 38,351 habitantes (INEGI, 2000) y tiene un índice de marginación medio.

La comunidad de El Refugio se caracteriza por ser una zona agrícola. Los cultivos de mayor importancia son: garbanzo, frijol, maíz, sorgo, girasol, jitomate, naranjo, nogal, mandarina, alfalfa, chile serrano, cacahuate y hortalizas. La mayoría de las tierras emplean el riego por goteo y la aplicación de agroquímicos es amplia y diversa (<http://www.sanluispotosi.gob.mx/>).

Esta comunidad se incluyó como sitio de referencia, debido a que a diferencia de las otras comunidades, ésta es una zona agrícola y no existen basureros cercanos al sitio.

La localización de los diferentes sitios de estudio se presenta en la Figura 3.

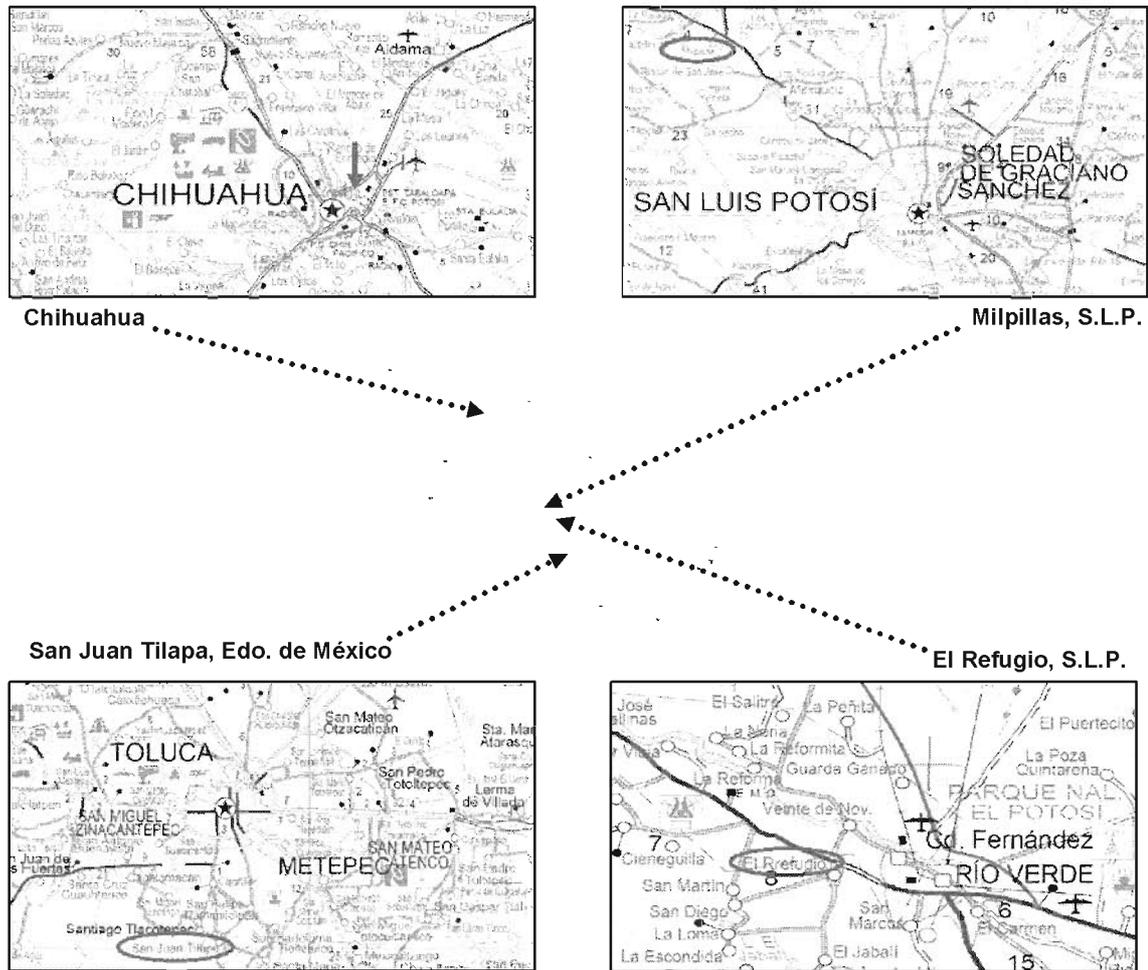


Figura 3. Localización de las zonas de estudio: Milpillas (San Luis Potosí), San Juan Tilapa (Edo. de México), Zona conurbana a la Ciudad de Chihuahua (Chihuahua) y El Refugio (San Luis Potosí).

2.2 Selección de la población de estudio

Se identificaron a las escuelas de educación preescolar, primaria y secundaria cercanas a los tiraderos de residuos municipales, se contactaron a las autoridades respectivas y se realizó la primera visita para explicarles el objetivo del proyecto. Con apoyo de la Dirección de cada escuela se citó a los padres de familia y se les explicó en que consistía el proyecto y se les invitó a participar voluntariamente en él. Se realizaron las listas preliminares de los niños cuyos padres manifestaron estar de acuerdo en participar y se les pidió que firmaran la carta de aceptación

correspondiente. Se notificó a los padres de familia la fecha programada para la toma de la muestra de sangre de sus hijos para que estuvieran presentes y además contestaran un cuestionario sobre aspectos sociodemográficos, nutricionales y de salud de los mismos. La población de estudio estuvo conformada por niños entre 3 y 16 años de edad (estudiantes de preescolar, primaria y secundaria). Se excluyeron aquellos niños que estuvieran enfermos en el momento de la colecta de la muestra de sangre y/o que padecieran alguna enfermedad crónica.

2.2.1. Toma de muestras biológicas

La colecta de las muestras de sangre se realizó por personal especializado, empleando material nuevo y estéril. Se colectaron en ayunas, 10 mL de sangre por punción venosa en tubos vacutainer sin anticoagulante. La muestra se centrifugó a 3,000 rpm durante 10 minutos, el suero obtenido fue transferido a viales ámbar prelavados y etiquetados para su correcta identificación, se congelaron a -20 °C hasta su análisis.

Se colectaron un total de 182 muestras: 64 en Milpillas, 43 en San Juan Tilapa, 28 en Chihuahua y 47 en El Refugio.

Durante la toma de las muestras de sangre, se registró el peso y la talla de cada niño participante y se les aplicó un cuestionario a sus padres para registrar sus datos generales como nombre del niño, edad, tiempo de residencia en su localidad, además de información sobre sus hábitos alimenticios, salud y uso de aparatos electrónicos entre otros. En el anexo II se presenta el formato del cuestionario aplicado y los datos registrados de cada localidad estudiada.

2.3 Selección de los contaminantes

Con base en el estudio preliminar realizado por López y col. (2004) y de algunos reportes de la literatura (Hites, 2004), se seleccionaron los cinco congéneres de los polibromados difenil éter (PBDEs), reportados como predominantes en muestras biológicas humanas, además se incluyó el congéner BDE-209, el cual ha sido poco analizado en poblaciones ocupacionalmente no expuestas. Los congéneres seleccionados se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. PBDEs cuantificados en muestras de suero de niños

Congéner	Nombre químico
BDE-47	2,2',4,4'-Tetrabromodifenil éter
BDE-77*	3,3',4,4'-Tetrabromodifenil éter
BDE-99	2,2',4,4',5-Pentabromodifenil éter
BDE-100	2,2',4,4',6-Pentabromodifenil éter
BDE-153	2,2',4,4',5,5'-Hexabromodifenil éter
BDE-154	2,2',4,4',5,6'-Hexabromodifenil éter
BDE-209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decabromodifenil éter

*Estándar interno.

2.4 Análisis cromatográfico

El trabajo experimental de esta tesis se realizó en el Departamento de Toxicología Ambiental de la Facultad de Medicina en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Una contribución importante del presente trabajo de tesis, fue la implementación del método analítico para la determinación de PBDEs en suero, con un estricto proceso de estandarización y validación.

2.4.1 Descripción del equipo y método cromatográfico

La cuantificación de los diferentes analitos se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent, modelo 6850 Network System equipado con un automuestreador modelo

6850, acoplado a un espectrómetro de masas Agilent, modelo 5973 Network. Se empleó una columna capilar DB-5HT marca J & W Scientific, de polaridad baja, con una longitud de 15 m, 0.25 mm de diámetro interno y 0.1 μm de espesor de película de fase estacionaria, utilizando Helio como gas acarreador. La temperatura del inyector fue de 250°C en el modo split-less manteniendo la válvula cerrada por un tiempo de 1.5 minutos. La temperatura de trabajo del detector fue de 320°C. Se trabajó con el siguiente programa de temperatura del horno: 80°C (1 minuto), 10°C/minuto hasta llegar a 270°C, 30°C/minuto hasta llegar a 300°C (5 minutos). El espectrómetro de masas utilizado se operó en el modo de ionización electrónica (EI), la temperatura de la fuente fue de 250°C. El volumen de inyección de la muestra fue de 4 μL .

2.4.2 Selección de los iones y determinación de los tiempos de retención

La cuantificación e identificación de los PBDEs de interés se realizó en función de su ión molecular y el pico base obtenido a partir del espectro de masas de cada uno de ellos, para lo cual se inyectaron en el modo SCAN estándares individuales en hexano, de los diferentes congéneres: BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-209 y BDE-77 (estándar interno) en concentraciones de 1.90; 2.24; 2.21; 1.84; 0.84 y 7.39 mg/L respectivamente (concentraciones en el rango lineal).

Los iones seleccionados se agruparon como sigue:

Grupo 1: iones 486 y 406 para identificar los congéneres BDEs 47 y 77.

Grupo 2: iones 404 y 564 para identificar los congéneres BDEs 99 y 100.

Grupo 3: iones 484 y 643 para identificar los congéneres BDEs 153, 154 y 209.

Los tiempos de retención se establecieron como la media obtenida de cinco réplicas después de inyectar estándares individuales en hexano de los congéneres BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-209 y BDE-77 (estándar interno) en concentraciones de 1.90; 2.24; 2.21; 1.84; 0.84 y 7.39 mg/L, respectivamente. La amplitud de la ventana del tiempo de retención para cada analito se definió como ± 3 veces la desviación estándar, a partir de los cromatogramas individuales.

2.4.3 Validación del método instrumental

Con la finalidad de establecer la confiabilidad de los resultados obtenidos en la cuantificación de los niveles de PBDEs en suero, se realizó la validación y estandarización del método instrumental y analítico. Se evaluó la repetibilidad, reproducibilidad, linealidad y porcentaje de recobro, se determinaron los límites de detección y cuantificación instrumentales y analíticos para cada analito, así como también se empleó un estricto control de calidad para garantizar la confiabilidad de los resultados obtenidos. El procedimiento se detalla en el anexo I.

2.4.4 Descripción del método analítico para la cuantificación de polibromados difenil éter en suero humano

2.4.4.1 Método de extracción

Veinticuatro horas previas al análisis de las muestras, se pesaron alícuotas de 5 g de suero problema en tubos de ensayo y se fortificaron con el estándar interno (BDE-77) en concentraciones de 5 ó 0.5 ng/g. Las muestras se agitaron en vortex por un minuto, se mezclaron por inversión durante 10 minutos y se guardaron en refrigeración y protegidas de la luz durante 24 horas.

El método de extracción de las muestras fue desarrollado por Hovander y col. (2000), a continuación se describe brevemente.

a) Desproteinización del suero y extracción de los lípidos

A cada una de las muestras, se les adicionó 1 mL de HCl 6M y 6 mL de isopropanol y se mezclaron en vortex por 1 minuto. Enseguida se realizó una extracción líquido-líquido, adicionando 6 mL de una mezcla hexano:MTBE (1:1), los tubos se mezclaron

5 minutos por inversión en una plataforma y se centrifugaron a 3,000 rpm durante 3 minutos.

La fase orgánica (fase superior) fue transferida a un segundo tubo (tubo 2), el cual contenía 4 mL de KCl al 1%. Al primer tubo se le adicionaron 3 mL de hexano, se mezcló 3 minutos por inversión, se centrifugó a 3,000 rpm durante 3 minutos y se transfirió la fase orgánica al tubo 2, éste se invirtió por 3 minutos y se centrifugó a 3,000 rpm durante 3 minutos. Con una pipeta Pasteur de punta larga se succionó la fase inferior (fase acuosa) y se eliminó, se adicionaron 4 mL de KCl al 1%, se invirtió por 5 minutos y se centrifugó durante 3 minutos, la fase orgánica se transfirió a un tubo cónico (tubo 3), previamente pesado. Al tubo 2 se le agregaron 3 mL de hexano, se invirtió por 3 minutos y se centrifugó a 3,000 rpm durante 3 minutos, la fase orgánica se transfirió al tubo 3. El contenido del tubo cónico se evaporó a 35°C, bajo una corriente de nitrógeno hasta llegar a peso constante, los lípidos se determinaron por gravimetría.

b) Hidrólisis y extracción de los analitos de los lípidos

Los lípidos obtenidos en el tubo 3, se disolvieron con 4 mL de hexano y se hidrolizaron con 2 mL de ácido sulfúrico concentrado, el tubo se mezcló por inversión durante 5 minutos y se centrifugó por 3 minutos a 3,000 rpm, la fase orgánica se transfirió a otro tubo cónico (tubo 4). Al tubo con el ácido se le adicionaron 3 mL de hexano, se invirtió por 3 minutos y se centrifugó a 3,000 rpm durante 3 minutos y la fase orgánica se transfirió al tubo 4. Las fases orgánicas se evaporaron a 35°C bajo una corriente de nitrógeno hasta aproximadamente 0.5 mL.

c) Limpieza de la muestra

Previamente se activó la sílica gel a 280°C durante 24 horas, se enfrió a temperatura ambiente, se guardó en un frasco ámbar y se mantuvo en el desecador hasta el momento de su uso. La columna se preparó como sigue: se colocó lana de vidrio en

el fondo de una pipeta Pasteur de punta larga, se agregaron 0.1 g de sílica activada, 1 g de una mezcla de sílica gel:H₂SO₄ conc. (2:1) y 0.1 g de sulfato de sodio anhidro.

La columna se acondicionó con 7 mL de hexano:diclorometano (1:2). Se adicionó el extracto obtenido del procedimiento previamente descrito (tubo 4) y se eluyó con dos volúmenes de 3.5 mL cada uno, de una mezcla de hexano:diclorometano (1:2). El eluato se evaporó a 35°C bajo una corriente de nitrógeno, hasta aproximadamente 100 µL. El extracto se transfirió a un microvial ámbar de cromatografía, se concentró en un mini-evaporador a un volumen final de 50 µL, se tapó y se analizó por cromatografía de gases masas de acuerdo a las condiciones cromatográficas indicadas en la sección 2.4.1.

2.4.4.2 Identificación y cuantificación de los PBDEs en suero

Los analitos fueron identificados por el método de ión selectivo y por sus tiempos de retención.

La cuantificación de cada analito se realizó interpolando el área bajo la curva (respuesta) en una curva de calibración generada a partir de muestras de "suero blanco" fortificadas con estándares de referencia en un mínimo de cinco puntos de concentración, en los siguientes intervalos de concentración: de 0.1 a 3.2 ng/g (intervalo bajo) con una concentración del estándar interno (BDE-77) de 0.5 ng/g; y de 0.5 a 16 ng/g (intervalo alto) con una concentración del estándar interno (BDE-77) de 5 ng/g.

Por cada lote de 11 muestras problemas, se incluyó un estándar de control de calidad, el cual era una muestra de "suero blanco" fortificada con 0.5 ó 3 ng/g de la mezcla de PBDEs, si éste tenía un valor fuera del intervalo de más menos dos desviaciones estándar, el lote de muestras problema era desechado.

2.5 Cuantificación colorimétrica de los lípidos

El fundamento del método se basa en la reacción de los lípidos con ácido sulfúrico concentrado, ácido fosfórico y vanilina para formar un complejo de color amarillo, el cual es leído a una longitud de onda de 560 nm (kit para determinar lípidos, marca RANDOX).

Alícuotas de 25 µl de cada muestra de suero se transfirieron a tubos de ensayo y se agregó 1 ml de ácido sulfúrico concentrado, los tubos se taparon y se mezclaron por inversión durante 10 segundos, se colocaron en un baño de agua hirviendo durante 10 minutos y se enfriaron hasta temperatura ambiente en un baño de agua fría. En tubos limpios se transfirieron alícuotas de 50 µl, se adicionaron 1.25 ml del reactivo colorante (una mezcla de ácido fosfórico y vanilina), se mezclaron durante 10 segundos y se dejaron reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente. En cada lote de muestras se procesó un punto de calibración y un blanco. Los valores obtenidos de lípidos se reportaron en g/L. Las muestras se analizaron en un equipo RA-50 Chemistry System, marca Bayer.

2.6 Determinación de hormonas tiroideas por inmunoensayo

Para la determinación de las hormonas: triyodotironina libre (T3L), tiroxina libre (T4L) y hormona estimulante de la tiroides (TSH) en suero, se empleó un analizador de inmunoensayo automatizado "IMMULITE 1000", el cual utiliza perlas de plástico específicas para cada ensayo, recubiertas de anticuerpo como fase sólida, un reactivo marcado con fosfatasa alcalina y un substrato de enzima quimioluminiscente. La perla está contenida en una unidad de prueba, la cual sirve como vaso de reacción para la reacción inmune, los procesos de incubación y lavado y el desarrollo de la señal. En copillas se agregaron alícuotas de 500 µl de cada muestra de suero, se colocaron en las portaceldas y éstas en la plataforma de carga seguidas de las unidades de prueba correspondientes a cada prueba (T3L, T4L y TSH). Las muestras y reactivos fueron vertidos de manera automática. Después de

incubar la muestra con el reactivo de fosfatasa alcalina, la mezcla de la reacción líquida contenida en la Unidad de Prueba se separa rápidamente de la perla cuando ésta se lava y la Unidad de Prueba gira a gran velocidad sobre su eje vertical. Todo el contenido de los fluidos (la muestra, el exceso de reactivo y la disolución de lavado) se transfiere a una cámara de desecho coaxial localizada en la Unidad de Prueba. La perla queda sin marca residual no unida. La marca unida es cuantificada mediante un substrato de dioxetano que produce luz. Un tubo fotomultiplicador (TFM) detecta la emisión de luz y la computadora del sistema elabora informes impresos de cada muestra.

Para el control de calidad se corrieron controles de concentración baja, media y alta, éstos se colocaron antes de las muestras problema, en medio y al final de las mismas (Tabla 4). El criterio de aceptación para evaluar la variación intra e interensayo para cada una de las pruebas fue igual o menor a un 15% del coeficiente de variación. Se utilizaron kits IMMULITE para cada una de las determinaciones de T3 libre, T4 libre y TSH.

Tabla 4. Estándares de control de calidad de las hormonas tiroideas

Concentración	T3 libre (pg/dL)	T4 libre (ng/dL)	TSH (uIU/mL)
Bajo	2.34 - 3.66	0.62-0.98 y 0.74-1.18	0.4-0.36 y 0.30-0.46
Medio	4.76-6.84 y 5.74-8.26	1.10-1.50 y 1.16-1.56	3.18 - 4.22
Alto	8.50-12.5 y 8.90-13.1	1.88-2.52 y 2.22-2.98	15.4-22.0 y 16.1-23.1

2.7 Análisis estadístico

Se realizó un análisis exploratorio de las variables para evaluar el tipo de distribución, seguido de un análisis bivariado. Aquellas variables que no se ajustaron a una distribución normal fueron transformadas a logaritmo decimal.

Debido a que las concentraciones séricas medidas de los PBDEs en todas las localidades de estudio no se ajustaron a una distribución normal, se aplicaron pruebas estadísticas no paramétricas. Para las comparaciones entre las medianas, se emplearon las pruebas de Kruskal-Wallis y de U-Mann-Whitney. Para evaluar la asociación entre las concentraciones de PBDES y los niveles de hormonas tiroideas y las variables sociodemográficas se obtuvieron los coeficientes de correlación de Spearman. Los niveles de significancia que se emplearon fueron $\alpha=0.01$ y $\alpha=0.05$. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS V12.

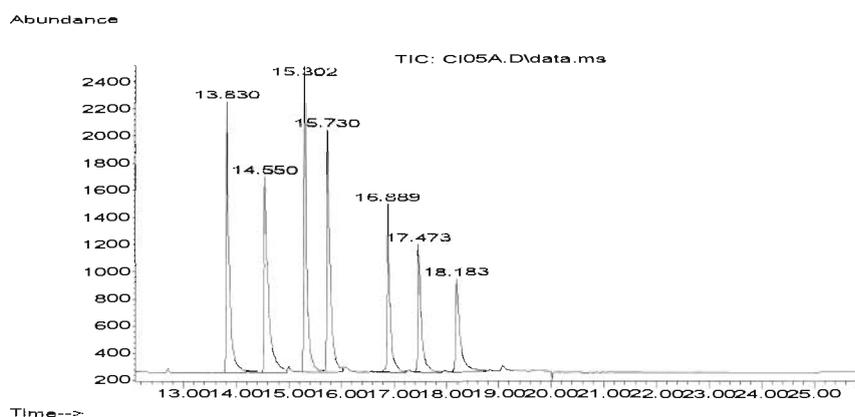
III. RESULTADOS

Los métodos instrumental y analítico empleados para la determinación de PBDEs en este estudio, fueron validados y cumplieron satisfactoriamente con los criterios de aceptación establecidos (EURACHEM, 1998; Horwitz, 1982; AOAC International, 1993). La calidad de la cuantificación de las muestras de suero fue controlada por la determinación del porcentaje de recobro de estándares de control de calidad, los cuales estuvieron dentro del intervalo del 96% al 113%. Tanto los resultados de las validaciones instrumental y analítica como los de los estándares de control de calidad se presentan de manera detallada en el anexo I.

En la Figura 4, se presentan tres cromatogramas, el primero fue obtenido de la inyección de una mezcla en hexano conteniendo los congéneres: BDEs 47, 99, 100, 153, 154, 209 y como estándar interno el 77. El segundo es resultante de una muestra de suero fortificada con estos mismos PBDEs; y el último corresponde a una de las muestras problema.

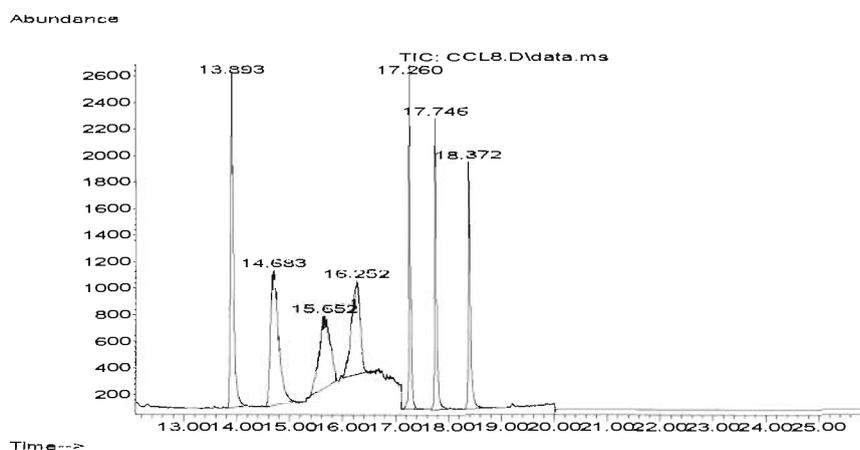
a) Cromatograma representativo de la mezcla de PBDEs en hexano.

BDE-47 (13.83 min)
 *BDE-77 (14.55 min)
 BDE-100 (15.30 min)
 BDE-99 (15.73 min)
 BDE-154 (16.89 min)
 BDE-153 (17.47 min)
 BDE-209 (18.18 min).
 *Estándar interno.



b) Cromatograma de la mezcla de PBDEs en suero blanco fortificado.

BDE-47 (13.89 min)
 *BDE-77 (14.68 min)
 BDE-100 (15.65 min)
 BDE-99 (16.252 min)
 BDE-154 (17.26 min)
 BDE-153 (17.75 min)
 BDE-209 (18.37 min).
 *Estándar interno.



c) Cromatograma de una muestra de suero de uno de los niños participantes en el estudio.

BDE-47 (13.918 min)
 *BDE-77 (14.69 min)
 BDE-99 (16.20 min)
 BDE-154 (17.38 min)
 BDE-153 (17.85 min).
 *Estándar interno.

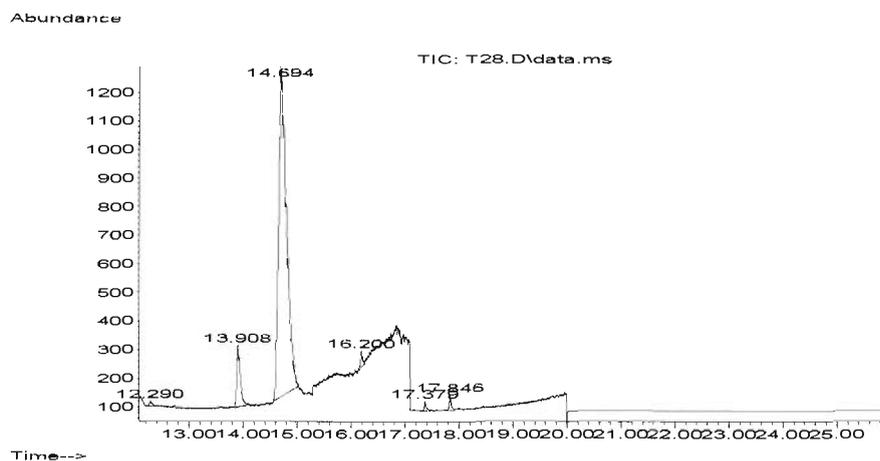


Figura 4: Cromatogramas de: a) una mezcla de polibromados difenil éter en hexano; b) una mezcla de polibromados difenil éter en suero blanco fortificado; y c) una muestra de suero de uno de los niños participantes en el estudio

En el presente estudio, se evaluaron un total de 182 niños, de las siguientes comunidades: Milpillas (64 niños) y El Refugio (47 niños) en el Estado de San Luis Potosí, San Juan Tilapa (43 niños) en el Edo. de México y en una zona conurbana a la ciudad de Chihuahua (28 niños). Los niños de Milpillas, de Chihuahua y de San Juan Tilapa viven cerca de basureros municipales, mientras que El Refugio se caracteriza por ser una comunidad agrícola (Tabla 5).

Tabla 5. Número de niños participantes por sitio de muestreo.

Localidad	Escuela	n	Edad
Milpillas ¹ San Luis Potosí (Basurero "El Peñasco")	Primaria "Niños Héroes"	64	7 - 16 años
Chihuahua (zona conurbana) ¹ Chihuahua	Primaria "2 de Abril"	28	6 - 12 años
San Juan Tilapa ¹ Estado de México	Primaria "Benito Juárez"	43	3 - 13 años
El Refugio ² San Luis Potosí	Primaria "Emiliano Zapata" Primaria "Benito Juárez" Primaria "Jaime Nunó"	47	6 - 13 años

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades de México. n = número de muestras. ¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillas, San Luis Potosí; Chihuahua, Chihuahua; y San Juan Tilapa, Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio, San Luis Potosí.

Las edades de los niños fluctuaron entre los 3 y 16 años con una media de 9.7 ± 2.5 años (ver Tabla 3). El 58% fueron niños y el 42% niñas. La información sobre los datos sociodemográficos y de salud de los niños y de sus padres, los hábitos alimenticios, las actividades extraescolares del niño y el uso de aparatos electrónicos, que fue recabada mediante la aplicación de un cuestionario, se presenta de manera detallada en el anexo II, en la tabla 6 se presentan solo algunos de estos datos.

Tabla 6. Características sociodemográficas, hábitos alimenticios y actividades extraescolares de los niños participantes

	Milpillas ¹ S.L.P. (n = 64)	El Refugio ² S.L.P. (n = 47)	Ciudad de Chihuahua (ZC) ¹ Chihuahua (n = 28)	San Juan Tilapa ¹ Edo. de México (n = 43)	Total (n = 182)
Edad (años)	*11 ± 1.8	*9.3 ± 1.7	*8.5 ± 1.8	*7.1 ± 2.8	*9 ± 2
	%				
Sexo					
Masculino	58	49	71	58	58
Femenino	42	51	29	42	42
Grado escolar					
Preescolar	---	---	---	26	6.5
1° a 3° primaria	14	62	64	44	47
4° primaria a 1° secundaria	84	38	36	28	47
Tiempo de lactancia					
< 6 meses	5	19	21	19	16
6 a 12 meses	38	38	39	42	39
> 12 años	28	11	25	14	20
Alimentación					
Leche de vaca	77	85	89	88	85
Carnes rojas y pollo	89	89	100	100	95
Pescados y mariscos	27	47	75	93	61
Atún	78	85	86	95	86
Huevo	86	91	96	100	93
Otros ³	81	89	96	100	92
Clases de computación (hr/sem)					
0.5	0	0	0	2.3	0.6
1	0	45	11	4.7	15
2	0	41	0	0	10
Ayuda a los padres en:					
Actividades del hogar	69	53	39	16	48
En la parcela	28	30	14	0	18
A elaborar ladrillos	12	0	0	2.3	3.6
A recolectar o pepenar basura	3.1	0	0	0	0.8
Otras ⁴	30	0	0	0	7
	9.4	17	7.1	2.3	7

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades en México. ¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillas San Luis Potosí; Zona conurbana a la ciudad de Chihuahua; y San Juan Tilapa Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio San Luis Potosí. n = número de muestras. *Media aritmética ± Desviación Estándar. ZC = zona conurbana. ³ Otros = yogurt, queso, crema, aceite de pescado y otros alimentos de origen animal. ⁴ Otras = Ayuda al cuidado de animales de pastoreo o crianza, actividades comerciales, en obras en construcción.

En la Tabla 7 se muestra el porcentaje obtenido de muestras de suero con valores por arriba del límite de detección del método (LDM), de cada uno de los congéneres polibromados y de la sumatoria Σ PBDEs (BDEs 47, 99, 100, 153, 154 y 209). El 88, 31, 13, 8, 4 y 0.5% del total de las muestras tuvieron valores arriba del LDM de los congéneres BDE-47, BDE-153, BDE-99, BDE-100, BDE-154 y BDE-209, respectivamente. Los valores de los congéneres BDE-99, BDE-100 y BDE-154 estuvieron abajo del LDM en la comunidad de San Juan Tilapa, del BDE-154 en las muestras de la Ciudad de Chihuahua y el BDE-209 solo fue detectado en una muestra de Milpillas. En San Juan Tilapa, el 49% de los niños presentaron niveles abajo del LDM de la Σ PBDEs.

Tabla 7. Porcentaje de muestras de suero de niños con niveles superiores al límite de detección del método (LDM) de PBDEs en cuatro localidades de México

	Milpillas, ¹ SLP	El Refugio, ² SLP	Chihuahua (ZC) ¹ Chihuahua	San Juan Tilapa ¹ Estado de México	Total
	%				
BDE- 47	100	100	96	51	88
BDE- 99	25	15	3.6	0	13
BDE- 100	11	15	3.6	0	8
BDE- 153	62	23	14	2.3	31
BDE- 154	9	2.1	0	0	4
BDE- 209	1.6	0	0	0	0.5
ΣPBDEs ³	100	100	100	51	88

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades de México.

¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillas (n=64), San Luis Potosí; Chihuahua, Chihuahua (n=28); y San Juan Tilapa (n=43), Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio (n=47), San Luis Potosí. n = número de muestras.

³ Sumatoria de los congéneres BDEs: 47, 99, 100, 153, 154 y 209. ZC = Zona conurbana.

En la Tabla 8 y la Figura 5, se presenta la concentración promedio (ng/g de lípidos) de los seis congéneres individuales y de su sumatoria. Los niveles promedio de la Σ PBDEs en Milpillas, en El Refugio, en la zona conurbana a la Ciudad de Chihuahua y en San Juan Tilapa fueron 7.3, 5.1, 3.7 y 2.7 ng/g de lípidos, respectivamente. El intervalo de la Σ PBDEs fue de no detectable hasta 40.4 ng/g de lípidos y el valor máximo fue cuantificado en la comunidad de Milpillas. De los congéneres individuales el BDE-47 presentó el nivel promedio más alto en las cuatro localidades, éste fue seguido por los congéneres BDE-153, BDE-99, BDE-100 y BDE-154.

Tabla 8. Concentraciones séricas de PBDEs en niños residentes de cuatro localidades de México

	Milpillas ¹ SLP	El Refugio ² SLP	Chihuahua (ZC) ¹ Chihuahua	San Juan Tilapa ¹ Estado de México	Total
	(n = 64)	(n = 47)	(n = 28)	(n = 43)	(n = 182)
	Media ± DE ⁴ (ng/g de lípidos)				
BDE-47	4.8 ± 3.9 (2 - 24.5)	3.9 ± 2.2 (1.1 - 10.2)	3.1 ± 1.2 (<LD - 10.6)	2.6 ± 3.7 (<LD - 17.4)	3.8 ± 3.3 (<LD - 24.5)
BDE-99	0.66 ± 1.3 (<LD - 6.5)	0.39 ± 1 (<LD - 3.8)	na (<LD - 1.5)	nd	0.34 ± 1 (<LD - 6.5)
BDE-100	0.32 ± 1.1 (<LD - 5.5)	0.38 ± 1.1 (<LD - 4.9)	na (<LD - 2.8)	nd	0.23 ± 0.85 (<LD - 5.5)
BDE-153	1.3 ± 1.4 (<LD - 6.6)	0.41 ± 0.82 (<LD - 3.4)	0.46 ± 1.5 (<LD - 7.7)	nd	0.67 ± 1.2 (<LD - 7.7)
BDE-154	0.12 ± 0.38 (<LD - 1.8)	na (<LD - 1.2)	nd	nd	0.05 ± 0.25 (<LD - 1.8)
BDE-209	Na (<LD - 1.6)	nd	nd	nd	na (<LD - 1.6)
ΣPBDEs ³	7.3 ± 6.7 (2 - 40.4)	5.1 ± 3.9 (1.1 - 20)	3.7 ± 3.2 (<LD - 18.4)	2.7 ± 4 (<LD - 17.4)	5.1 ± 3.8 (<LD - 40.4)

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades de México. n = número de muestras.

¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillas, San Luis Potosí; Chihuahua, Chihuahua; y San Juan Tilapa, Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio, San Luis Potosí. ³ Sumatoria de los congéneres BDEs: 47, 99, 100, 153, 154 y 209.

⁴ Media aritmética ± desviación estándar, sólo se reporta la media de los congéneres con n ≥ 3 muestras con niveles detectables. na = no aplica. Entre paréntesis se presenta el valor mínimo y el valor máximo. nd = no detectable. ZC = Zona conurbana. <LD = menor al límite de detección (BDE47 = 0.66, BDE99 = 1.08, BDE100 = 1.04, BDE153 = 0.88, BDE154 = 0.96 y BDE209 = 0.92).

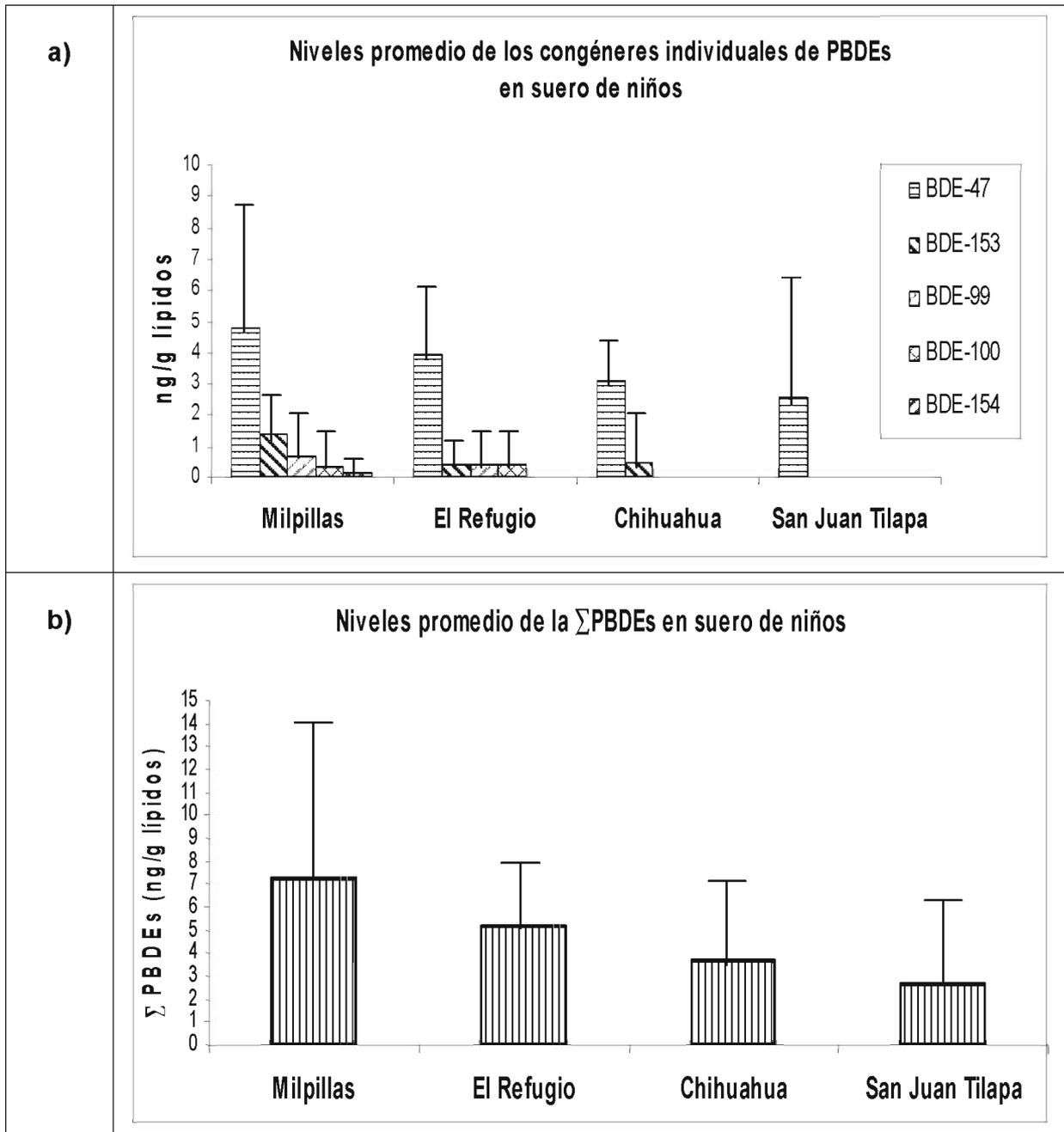


Figura 5. Concentraciones promedio de PBDEs en suero de niños de cuatro localidades de México. **a)** Niveles promedio de los congéneres individuales de PBDEs en suero de niños.

b) Niveles promedio de la Σ PBDEs (sumatoria de los congéneres BDEs 47, 99, 100, 153, 154 y 209) en suero de niños. Las localidades Milpillas, San Luís Potosí (n = 64); zona conurbana a la ciudad de Chihuahua, Chihuahua (n = 28) y San Juan Tilapa, Estado de México (n = 43) se encuentran aproximadamente entre 1 y 2 km. de un tiradero de residuos sólidos. La localidad de El Refugio, San Luís Potosí (n = 47) es una zona agrícola. n = número de muestras. Sólo se reporta la media de los congéneres con n \geq 3 muestras con niveles detectables. *Media aritmética \pm Desviación estándar.

En la Tabla 9, se reportan los percentiles 25, 50, 75 y 95 de cada uno de los congéneres individuales y de la sumatoria de los seis congéneres analizados. El 25% de los niños presentaron concentraciones de Σ PBDEs iguales o menores a 2.2 ng/g de lípidos, el 50% concentraciones menores a los 4 ng/g de lípidos y el 75% menoreo iguales a 6.2 ng/g de lípidos.

Tabla 9. Percentiles de los niveles de PBDEs en suero de niños de cuatro localidades de México

	Milpillas ¹	El Refugio ²	Chihuahua (ZC) ¹	San Juan Tilapa ¹	Total
	SLP	SLP	Chihuahua	Estado de México	
	(n = 64)	(n = 47)	(n = 28)	(n = 43)	(n = 182)
ng/g de lípidos					
BDE-47					
P ₂₅	2.8	2.3	1.8	< LD	2.1
P ₅₀	3.4	3.3	2.4	1.4	3.1
P ₇₅	4.9	4.7	3.7	4.2	4.5
P ₉₅	13.7	9.2	8.6	10.8	10.6
BDE-99					
P ₂₅	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₅₀	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₇₅	1	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₉₅	3.8	3.3	0.84	< LD	2.6
BDE-100					
P ₂₅	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₅₀	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₇₅	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₉₅	3.6	3.5	1.6	< LD	1.8
BDE-153					
P ₂₅	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₅₀	1.4	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₇₅	2.1	< LD	< LD	< LD	1.3
P ₉₅	3.9	2.2	5.1	< LD	3
BDE-154					
P ₂₅	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₅₀	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₇₅	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₉₅	1.4	< LD	< LD	< LD	< LD
BDE-209					
P ₂₅	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₅₀	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₇₅	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
P ₉₅	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
ΣPBDEs ³					
P ₂₅	3.3	2.6	2	< LD	2.2
P ₅₀	5.5	3.9	2.9	1.4	3.8
P ₇₅	8.3	6.3	4.6	4.2	6.2
P ₉₅	23.2	14.1	12.9	13.6	17

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades de México. n = número de muestras. ¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillás, San Luis Potosí; Chihuahua, Chihuahua; y San Juan Tilapa, Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio, San Luis Potosí. ³ Sumatoria de los congéneres BDEs: 47, 99, 100, 153, 154 y 209. P₂₅ P₅₀ P₇₅ P₉₅ = Percentiles 25, 50, 75 y 95. ZC = Zona conurbana. <LD = menor al límite de detección (BDE47 = 0.66, BDE99 = 1.08, BDE100 = 1.04, BDE153 = 0.88, BDE154 = 0.96 y BDE209 = 0.92).

La proporción de los congéneres individuales, en las muestras de los niños de las cuatro localidades se muestra en la Figura 6. El congéner predominante fue el BDE-47, el cual representó alrededor del 75% de la Σ PBDEs, seguido por los compuestos BDE-153 (13%), BDE-99 (6.5%), BDE-100 (4.5%) y BDE-154 (1%).

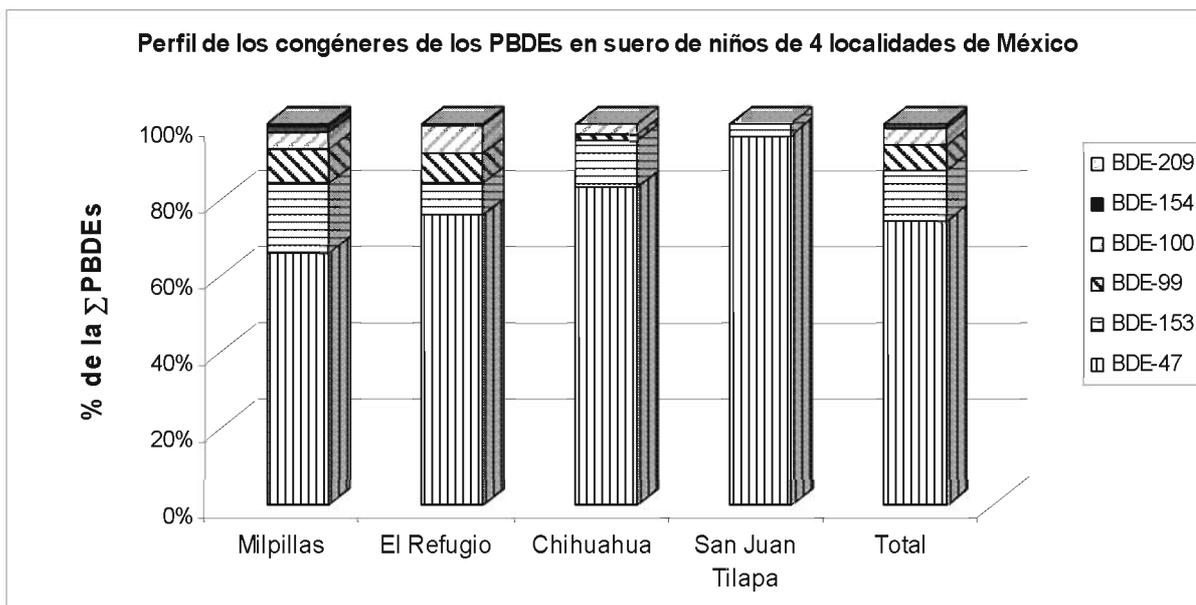


Figura 6. Proporción de los PBDEs (%) en suero de niños de cuatro localidades de México. Las localidades Milpillás, San Luís Potosí (n = 64); zona conurbana a la ciudad de Chihuahua, Chihuahua (n = 28) y San Juan Tilapa, Estado de México (n = 43) se encuentran alrededor de 1 a 2 km. de un tiradero de residuos sólidos. La localidad de El Refugio, San Luís Potosí (n = 47) es una zona agrícola. n = número de muestras.

Considerando al total de la población (n=182) algunos de los congéneres individuales correlacionaron entre sí. El BDE-47 (congéner predominante) correlacionó significativamente con los congéneres BDE-99 ($r=0.57$, $p<0.01$) y BDE-153 ($r=0.48$, $p<0.01$). Los congéneres BDE-154 y BDE-209 fueron excluidos de los cálculos de los coeficientes de correlación debido a que más del 95% de las mediciones estuvieron abajo del límite de detección.

En la Figura 7 se presentan las medianas de las concentraciones de la Σ PBDEs. En Milpillás fue de 5.5 ng/g de lípidos, en El Refugio de 3.8 ng/g de lípidos, en la zona

conurbana a la Ciudad de Chihuahua de 2.9 ng/g de lípidos y en San Juan Tilapa de 1.4 ng/g de lípidos. Los valores de las medianas de la Σ PBDEs entre las cuatro comunidades no fueron estadísticamente diferentes (Kruskal-Wallis, $p < 0.05$). El 67% de los niños tuvieron concentraciones iguales o menores a 5 ng/g de lípidos, el 32.5 % entre 6 y 24 ng/g de lípidos y el 0.5% iguales o mayores a 25 ng/g de lípidos.

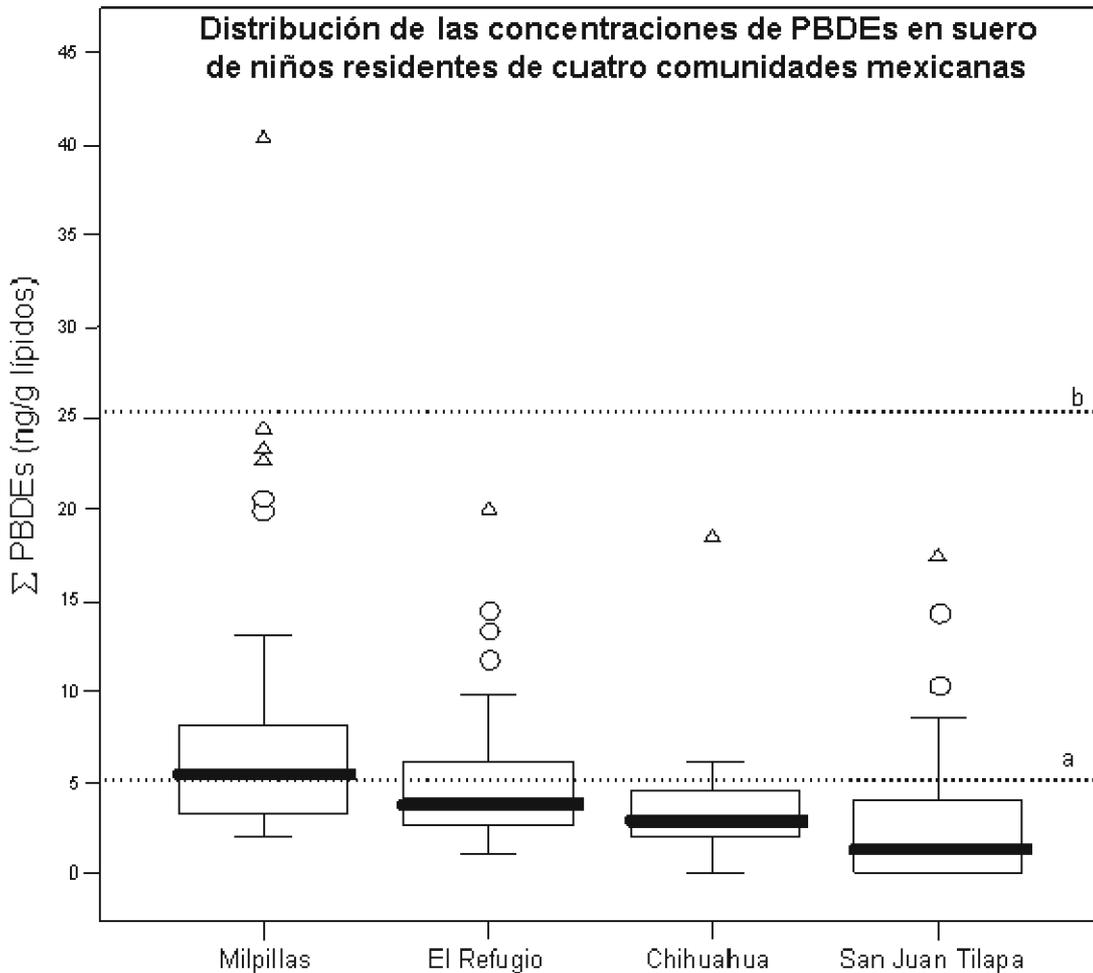


Figura 7. Comparación de los niveles de PBDEs en suero de niños de cuatro localidades de México. ¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillas San Luís Potosí (n = 64); Chihuahua (n = 28); y San Juan Tilapa Estado de México (n = 43). ² Localidad agrícola: El Refugio San Luís Potosí (n = 47). n = número de muestras. a = niveles promedio de PBDEs en suero de una población de europeos y b = niveles promedio de PBDEs en suero de una población de norteamericanos (Hites y col., 2004). O Valores fuera de intervalo (niños con niveles de PBDEs entre 1.5 a 3 intervalos intercuartil). Δ Valores extremos (niños con niveles de PBDEs mayores a 3 intervalos intercuartil)

El control de calidad durante el análisis y cuantificación de los niveles séricos de las hormonas T3 libre, T4 libre y TSH fue regido por la inclusión de estándares de concentraciones conocidas en tres niveles de concentración. Los valores obtenidos, estuvieron dentro del intervalo de error establecido por el certificado de calibración de los estándares. Los coeficientes de variación fueron de, 3.9 a 11.3% para la T3 libre, de 2.1% a 7% para la T4 libre y de 5.7% a 7.2% para la TSH.

La proporción de los niveles séricos de las hormonas tiroideas en los niños de las cuatro localidades de México de acuerdo a los valores normales de las mismas, se presentan en la Tabla 7. En Milpillas, en El Refugio, en la zona conurbada a la Ciudad de Chihuahua y en San Juan Tilapa, el 6.2, 2.1, 27 y 9.3% de los niveles de TSH estuvieron fuera del intervalo normal (0.4 a 4 uIU/ml). Respecto a los niveles de T3 libre, el 3.1, 13, 27 y 37% estuvieron fuera del intervalo normal (1.5 a 4.1 pg/ml) en Milpillas, en El Refugio, en la zona conurbada a la Ciudad de Chihuahua y en San Juan Tilapa, respectivamente. El 12% de los niveles de T4 libre en San Juan Tilapa estuvieron fuera del intervalo normal (0.8 a 1.9 ng/dl). Considerando el total de los niños el 8% de los niveles de TSH estuvieron arriba del intervalo normal y el 1% abajo; el 16% de los niveles de T3 libre estuvieron arriba del intervalo normal y el 1% abajo y el 3% de los niveles de T4 libre estuvieron arriba del intervalo normal. El 91% de los niños presentaron niveles normales de TSH, el 83% concentraciones normales de T3 libre y el 97% valores normales de T4 libre.

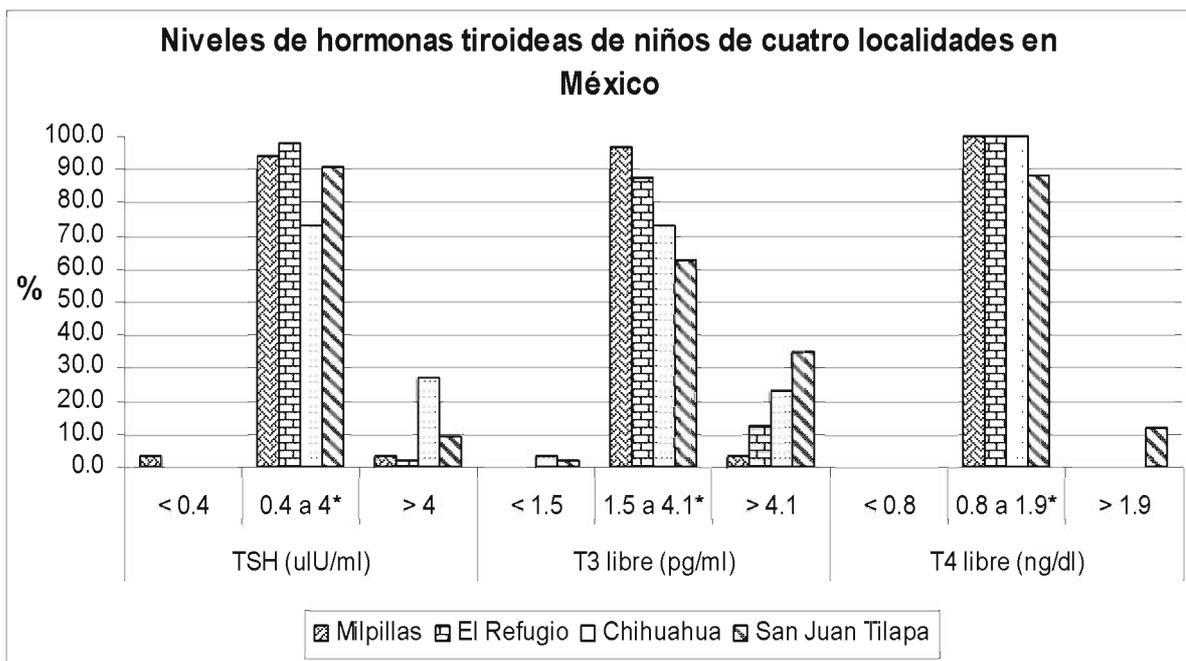


Figura 8. Proporción de las concentraciones séricas de las hormonas tiroideas de los niños evaluados con respecto a los valores de referencia. Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillas (n=64), San Luís Potosí; zona conurbana a la ciudad de Chihuahua (n=28), Chihuahua; y San Juan Tilapa (n=43), Estado de México. Localidad agrícola: El Refugio (n=47), San Luís Potosí. n = número de muestras. Valores normales: TSH 0.4 a 4 uIU/ml; T3 libre 1.5 a 4.1 pg/ml; T4 libre 0.8 a 1.9 ng/dl. La determinación del perfil tiroideo se realizó en un analizador de inmunoensayo automatizado "IMMULITE 1000". TSH = Hormona estimulante de la tiroides o tirotropina. T3 libre = Triyodotironina (forma libre). T4 libre = Tiroxina (forma libre).

Considerando al total de los niños evaluados (n= 182), la única correlación estadísticamente significativa que se observó entre las hormonas tiroideas, fue entre la T3 libre y la TSH ($r=0.21$, $p<0.01$), es decir, los niveles de la T3 libre aumentaron al incrementarse los de la TSH. Debido a que fisiológicamente, las hormonas T3/T4 y la TSH son reguladas mediante un sistema feedback negativo, se esperaba encontrar correlaciones negativas entre los niveles de éstas, es decir que las concentraciones de las hormonas T3 y T4 disminuyeran al aumentar los niveles de la TSH o viceversa.

Se realizaron correlaciones de Spearman para determinar si existía una asociación entre los niveles de PBDEs y las hormonas tiroideas, ya que se ha reportado en la literatura de que estos contaminantes pueden alterar la homeostasis de las mismas (Birnbaum, 2004; Zhou y col., 2001, 2002; Zoeller y col., 2002; Hallgren y col., 2001, 2002; Darnerud y col., 2003, 2004; Boas y col., 2006). Cuando se analizaron a todos los niños juntos, los niveles de la hormona tirotrópica (TSH) correlacionaron negativamente con las concentraciones del congéner BDE-47 ($r = -0.22, p < 0.01$) y con la Σ PBDEs ($r = -0.19, p < 0.01$). Se observó una correlación negativa estadísticamente significativa entre los niveles de la hormona T3 libre y las concentraciones del BDE-47 ($r = -0.20, p < 0.01$), del BDE-153 ($r = -0.20, p < 0.01$) y la Σ PBDEs ($r = -0.17, p < 0.05$). Cuando se analizaron por comunidad, en Milpillas se encontró una correlación entre los niveles de T3 libre y los valores de BDE-153 ($r = -0.26, p < 0.05$) y la Σ PBDEs ($r = -0.26, p < 0.05$). Los niveles séricos de la hormona T4 libre de los niños de San Juan Tilapa tuvieron correlaciones positivas y estadísticamente significativas con las concentraciones del BDE-47 ($r = 0.45, p < 0.01$) y la Σ PBDEs ($r = 0.39, p < 0.05$). En El Refugio los coeficientes de correlación estadísticamente significativos entre los congéneres BDE-99 y BDE-153 y la hormona T4 libre fueron: $r = -0.31 (p < 0.05)$ y $r = -0.29 (p < 0.05)$, respectivamente.

Se realizó un análisis bivariado entre las concentraciones de PBDEs en suero y los datos obtenidos de las variables del cuestionario de exposición (ver anexo II), tales como edad, sexo, tiempo de residencia, tiempo de lactancia, horas clase a la semana de computación, horas a la semana que ve televisión y número de aparatos electrónicos que tienen en casa, entre otras. En la Tabla 10 se reportan los coeficientes de correlación de Spearman de las variables que fueron significativas. Cuando se analizaron a los 182 niños se observó una correlación negativa entre la concentración del BDE-100 y la edad del niño ($r = -0.18, p < 0.05$); mientras que el tiempo de lactancia correlacionó positivamente con el BDE-47 ($r = 0.18, p < 0.05$). Cuando se realizó el análisis por localidad, la edad del niño en San Juan Tilapa correlacionó significativamente con los niveles del BDE-47 ($r = -0.42, p < 0.01$) y de la

Σ PBDEs ($r = -0.44$, $p < 0.01$), lo que significa que las concentraciones de estos compuestos disminuyeron al aumentar la edad del niño. En Milpillas los niveles del BDE-99 y de la Σ PBDEs con respecto al tiempo de lactancia presentaron coeficientes de correlación estadísticamente significativos de 0.30 ($p < 0.05$) y de 0.32 ($p < 0.05$), respectivamente, es decir, los niveles aumentaron a mayor tiempo de lactancia; en esta misma localidad los niveles del BDE-153 y del BDE-154 correlacionaron estadísticamente con el tiempo de residencia, se obtuvieron coeficientes de correlación de 0.42 ($p < 0.01$) y de 0.31 ($p < 0.05$) respectivamente, la interpretación es que los niveles de estos congéneres incrementaron, al aumentar el tiempo de residencia; así mismo se encontró una correlación positiva estadísticamente significativa entre los niveles de BDE-47 y el número total de aparatos electrónicos que se tienen en casa ($r = 0.37$, $p < 0.01$).

Tabla 10. Correlaciones entre las concentraciones séricas de PBDEs de los niños y la edad, el período de lactancia y el tiempo de residencia en su localidad

	Milpillas ¹ SLP (n = 64)	El Refugio ² SLP (n = 47)	Chihuahua (ZC) ¹ Chihuahua (n = 28)	San Juan Tilapa ¹ Estado de México (n = 43)	Total (n = 182)
Coeficiente de correlación (r) de Spearman					
Edad del niño –					
BDE47	0.14	-0.06	-0.11	-0.42**	0.13
BDE99	-0.04	-0.04	na	Nd	-0.06
BDE100	0.21	-0.03	na	Nd	-0.18*
BDE153	0.18	-0.02	-0.12	Na	0.06
BDE154	0.08	na	nd	Nd	-0.04
ΣPBDEs ³	0.11	-0.04	0.08	-0.44**	0.02
Tiempo de lactancia –					
BDE47	0.25	0.03	0.04	0.13	0.18*
BDE99	0.32*	0.04	na	Nd	0.14
BDE100	0.06	0.20	na	Nd	0.02
BDE153	0.13	-0.14	0.04	Na	0.12
BDE154	-0.05	na	nd	Nd	-0.01
ΣPBDEs ³	0.30*	0.004	0.02	-0.05	0.16
Tiempo de residencia en la localidad –					
BDE47	0.18	-0.18	-0.08	Na	0.09
BDE99	0.09	-0.18	na	Nd	-0.05
BDE100	0.07	0.09	na	Nd	-0.16
BDE153	0.42**	-0.15	0.02	Na	0.10
BDE154	0.31*	na	nd	Nd	-0.09
ΣPBDEs ³	0.27	-0.14	-0.06	Na	0.04

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades de México. n = número de muestras.

¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillás, San Luis Potosí; Chihuahua, Chihuahua; y San Juan Tilapa, Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio, San Luis Potosí. ³ Sumatoria de los congéneres BDEs: 47, 99, 100, 153, 154 y 209. ZC = Zona conurbana. Sólo se reportan las correlaciones n ≥ 3 muestras con niveles detectables. na = no aplica. nd = no detectable. r = Coeficiente de Spearman *p<0.05. **p<0.01.

Para evaluar la influencia de los hábitos alimenticios de los niños en los niveles de PBDEs en suero, se realizaron comparaciones de los niveles de estos compuestos entre los niños que consumen y los que no, alimentos como leche de vaca, carnes rojas y pollo, pescados y mariscos, atún, huevo y otros alimentos de origen animal

tales como queso, crema, yogurt y aceite de pescado, entre otros, para lo cual se empleó la prueba estadística de U-Mann-Whitney. Solo se presentan los resultados que fueron significativamente diferentes (Tablas 11 y 12). En Milpillas los niños que consumen pescados y mariscos tuvieron niveles superiores de los compuestos BDE-47 y BDE-100 y de la Σ PBDEs que los que no los consumen. En El Refugio, los niños que comen atún (Tabla 12) presentaron niveles mayores de los congéneres BDE-100 y BDE-153, con respecto a los que no lo consumen. Estos resultados sugieren que los alimentos contaminados con PBDEs pueden ser una ruta de exposición importante.

Tabla 11. Comparación de las concentraciones séricas de PBDEs de los niños con respecto a sus hábitos alimenticios (consumo de pescado y mariscos)

		Milpillas ¹	El Refugio ²	Chihuahua (ZC) ¹	San Juan Tilapa ¹	Total
		SLP	SLP	Chihuahua	Estado de México	
		(n = 64)	(n = 47)	(n = 28)	(n = 43)	(n = 182)
Mediana (ng/g de lípidos)						
BDE47	Si	5.3 *	3.1	2.6	2.1	3.1
	No	3.2 *	3.3	2.3	1.4	3.1
BDE99	Si	0.66	0.70	na	nd	0.60
	No	0.55	0.51	na	nd	0.54
BDE100	Si	0.28 *	0.23	na	nd	0.31 *
	No	0.16 *	0.12	na	nd	0.16 *
BDE153	Si	1.6	0.64	1.2	na	1.0
	No	1.2	0.50	0.82	na	0.69
BDE154	Si	0.56	na	nd	nd	0.51
	No	0.47	na	nd	nd	0.45
Σ PBDEs ³	Si	8.9 *	5.8	5.9	5.7	6.2
	No	5.9 *	5.5	5.1	3.3	5.5

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades de México. n = número de muestras.

¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillas, San Luis Potosí; Chihuahua, Chihuahua; y San Juan Tilapa, Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio, San Luis Potosí. ³ Sumatoria de los congéneres BDEs: 47, 99, 100, 153, 154 y 209. ZC = Zona conurbana. Sólo se reportan las comparaciones n \geq 3 muestras con niveles detectables. na = no aplica. nd = no detectable. U-Mann-Whitney, *p<0.05. Las comparaciones se realizaron entre los niños que si consumen y los que no consumen este alimento.

Tabla 12. Comparación de las concentraciones séricas de PBDEs de los niños con respecto a sus hábitos alimenticios (consumo de atún)

		Milpillas ¹	El Refugio ²	Chihuahua (ZC) ¹	San Juan Tilapa ¹	Total
		SLP	SLP	Chihuahua	Estado de México	
		(n = 64)	(n = 47)	(n = 28)	(n = 43)	(n = 182)
		Mediana (ng/g de lípidos)				
BDE47	Si	3.3	3.3	2.4	2.1	3.0
	No	5.1	3.1	4.3	5.8	4.3
BDE99	Si	0.55	0.63	na	nd	0.55
	No	0.81	0.20	na	nd	0.79
BDE100	Si	0.2	0.15 *	na	nd	0.23
	No	0.22	0.10 *	na	nd	0.16
BDE153	Si	1.3	0.64 *	1.1	na	0.84
	No	1.6	0.20 *	1.5	na	1.5
BDE154	Si	0.50	na	nd	nd	0.47
	No	0.57	na	nd	nd	0.54
Σ PBDEs ³	Si	6.5	5.8	5.6	5.5	5.8
	No	8.4	4.8	7.3	15.6	7.3

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades de México. n = número de muestras.

¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillás, San Luis Potosí; Chihuahua, Chihuahua; y San Juan Tilapa, Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio, San Luis Potosí. ³ Sumatoria de los congéneres BDEs: 47, 99, 100, 153, 154 y 209. ZC = Zona conurbana. Sólo se reportan las comparaciones n \geq 3 muestras con niveles detectables. na = no aplica. nd = no detectable. U-Mann-Whitney, *p<0.05. Las comparaciones se realizaron entre los niños que si consumen y los que no consumen este alimento.

Mediante la prueba de U-Mann-Whitney, se compararon los niveles de PBDEs entre los niños que recolectan y/o pepeñan basura y los que no realizan esta actividad. Este análisis se realizó únicamente para la localidad de Milpillias, ya que en las demás comunidades, los padres de familia no reportaron que ellos o sus hijos realizaran este tipo de actividades. En la Tabla 13 se muestran los resultados obtenidos. Los niños que recolectan y/o pepeñan basura presentaron niveles superiores de los congéneres BDE-47, BDE-99 y BDE-100 y de la Σ PBDEs.

Tabla 13. Comparación de las concentraciones séricas de PBDEs de los niños que viven en Milpillias, S.L.P. y que son recolectores y/o pepeñadores de basura

		Milpillias ¹
		SLP
		(n = 64)
Los niños pepeñan y/o recolectan basura:		Mediana (ng/g de lípidos)
BDE47	Si	7.6 *
	No	3.2 *
BDE99	Si	1.5 *
	No	0.47 *
BDE100	Si	0.38 *
	No	0.14 *
BDE153	Si	1.73
	No	1.21
BDE154	Si	0.55
	No	0.47
Σ PBDEs ³	Si	12.7 *
	No	6.1 *

¹ La localidad de Milpillias, San Luis Potosí se encuentra alrededor de 1 a 2 Km del tiradero de residuos sólidos municipales denominado "El Peñasco". n = 19 niños que realizan actividades de pepeña, n = 45 niños que no realizan actividades de pepeña. ³ Sumatoria de los congéneres BDEs: 47, 99, 100, 153, 154 y 209. ZC = Zona conurbana. Sólo se reportan las comparaciones n \geq 3 muestras con niveles detectables. U-Mann-Whitney, *p<0.05.

No se encontró ninguna correlación estadística entre los niveles séricos de PBDEs y variables como sexo del niño, horas clases por semana de computación, horas por semana que el niño juega en videojuegos o ve televisión.

IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los métodos instrumental y analítico cumplieron con todos los parámetros de validación y los resultados obtenidos estuvieron dentro de los criterios de aceptación establecidos. Los porcentajes de recobro de los estándares de control de calidad estuvieron entre el 96% y el 113%. Los componentes del suero analizado presentaron interferencias en el proceso de cuantificación de los PBDEs observándose un efecto de matriz, el cual fue disminuido al construir curvas de calibración en suero para la cuantificación de los diferentes analitos en las muestras problema.

Los polibromados difenil éter se han convertido en contaminantes ambientales ubicuos, varios estudios científicos realizados en los últimos 30 años en diversos países del mundo han detectado la presencia de este tipo de compuestos químicos en diferentes matrices ambientales y biológicas (Birnbaum, 2004; de Wit, 2002; Hites, 2004). Su movilidad en el ambiente no es sorprendente, debido a la gran variedad y cantidad de productos de consumo que los contienen y a sus propiedades fisicoquímicas.

El presente estudio demostró que el 88% de los niños evaluados ($n = 182$), residentes de cuatro localidades urbanas y suburbanas de México (Milpillas, San Luís Potosí; ciudad de Chihuahua, Chihuahua (zona conurbana); San Juan Tilapa, Estado de México y El Refugio, San Luís Potosí) presentaron concentraciones séricas de PBDEs superiores al límite de detección del método. No obstante el tamaño de muestra, estos resultados confirman la presencia de estos contaminantes en poblaciones abiertas en México, estos resultados se unen a dos estudios preliminares en los cuales se detectaron PBDEs en plasma y en leche de mujeres mexicanas (López y col., 2006) y en niños de dos estados de la República Mexicana (Martínez, 2007).

Tanto la población infantil que vive en las localidades cercanas a sitios de disposición de residuos sólidos municipales: Milpillas, San Luís Potosí; Chihuahua, Chihuahua (zona conurbana) y San Juan Tilapa, Estado de México, como la que vive en una zona agrícola (El Refugio, San Luís Potosí), se encuentran expuestas a polibromados difenil éter. El no haber encontrado diferencias entre comunidades se debe a que las fuentes de exposición de los PBDEs son muy diversas, como son el aire, suelo, agua y alimentos contaminados. En la Figura 9, se presentan las concentraciones en ng/g de lípidos de la sumatoria de los compuestos bromados (Σ PBDEs) de los 182 niños evaluados.

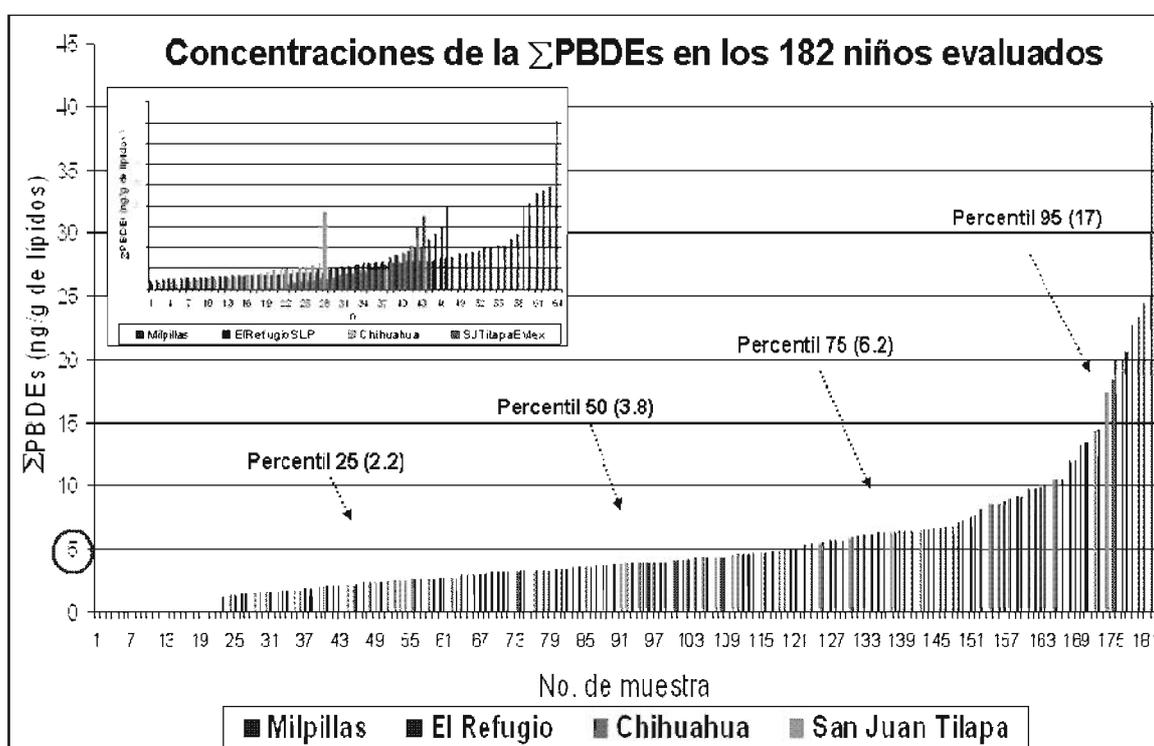


Figura 9. Concentraciones de la Σ PBDEs de niños residentes de cuatro localidades de México. Las localidades Milpillas, San Luís Potosí (n = 64); zona conurbana a la ciudad de Chihuahua, Chihuahua (n = 28) y San Juan Tilapa, Estado de México (n = 43) se encuentran alrededor de 1 a 2 km de un tiradero de residuos sólidos. La localidad de El Refugio, San Luís Potosí (n = 47) es una zona agrícola. n = número de muestras. Σ PBDEs = Sumatoria de los congéneres BDEs: 47, 99, 100, 153, 154 y 209. P25 P50 P75 P95 = Percentiles 25, 50, 75 y 95.

La concentración promedio de la sumatoria de los congéneres BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-154, BDE-153 y BDE-209 (Σ PBDEs), en los 182 niños fue de 5.1 ± 3.8 ng/g de lípidos. El 67% de los niños que participaron en este estudio presentaron concentraciones comparables a los niveles promedio reportados en residentes adultos de Europa (Birnbbaum, 2004; de Wit, 2002; Hites, 2004) y el 5% presentaron valores superiores a los 17 ng/g de lípidos (percentil 95). Solo un niño tuvo una concentración superior al valor promedio reportado por López y col. (2004) (29 ng/g de lípidos).

Comparando nuestros resultados con otros estudios reportados en la literatura (Tabla 14), la mediana de la sumatoria de los congéneres: BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153 y BDE-154 fue similar a la de niños de 7 años de edad de las Islas Faroe (Fangstrom y col., 2005), 3.8 y 4.7 ng/g de lípidos, respectivamente. Mientras que la concentración promedio (5.1 ng/g de lípidos) de la sumatoria de estos mismos congéneres fue similar a la de niños noruegos de 4 a 14 años de edad (4.3 ng/g de lípidos) (Thomsen y col., 2002).

Tabla 14. Comparación de los niveles séricos de la Σ PBDEs de los niños de México, con respecto a los niveles reportados en niños de otros países.

	México ¹	Islas Faroe ²		México ¹	Noruega ³		California, EUA
	(n = 182)	(n = 42)		(n = 182)	(n = 10)		(n = 1)
Σ PBDEs	Mediana (ng/g de lípidos)			Media (ng/g de lípidos)			ng/g de lípidos
	3.8	4.7		5.1	4.3		245

Concentración promedio de la sumatoria de los congéneres BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153 y BDE154

¹ Niños mexicanos (3 a 16 años de edad).

² Niños de las Islas Faroe (7 años) ((Fangstrom y col., 2005).

³ Niños noruegos (4 a 14 años) (Thomsen y col., 2002).

⁴ Niños noruegos (5 años) (Fischer y col., 2006).

Los niveles séricos de la sumatoria de los congéneres BDEs 47, 99, 100, 153, 154 y 209 (Σ PBDEs) de los niños de las tres localidades cercanas a los basureros y de la comunidad agrícola no presentaron diferencias estadísticamente significativas (Kruskal-Wallis, $p < 0.05$) entre ellos. Sin embargo el valor de la mediana de los niños de Milpillas (5.5 ng/g de lípidos) fue mayor 1.4, 1.9 y 4 veces que la de los niños de El Refugio (3.9 ng/g de lípidos), de la zona conurbana a la ciudad de Chihuahua (2.9 ng/g de lípidos) y de San Juan Tilapa (1.4 ng/g de lípidos), respectivamente. Probablemente debido a que los niños de Milpillas viven muy cerca del tiradero de residuos sólidos municipales y de acuerdo a la información recabada del cuestionario, algunos de ellos son recolectores y/o pepenadores de basura, en esta localidad también se observó la presencia de ladrilleras, las cuales en algunas ocasiones utilizan plásticos como combustible en los hornos, esto podría estar influyendo en los niveles séricos de PBDEs, aunque difícilmente con este estudio se puede determinar la influencia de éstas en los niveles séricos de estos contaminantes. Los niños de El Refugio presentaron concentraciones de PBDEs menores que los niños de Milpillas, pero éstas fueron más altas en una proporción de 1.3 y de 2.8 veces que los niveles detectados en los niños de la zona conurbana a la ciudad de Chihuahua y de San Juan Tilapa. Las dos localidades antes mencionadas también se encuentran a una distancia de entre 1 y 2 km de basureros, sin embargo a pesar de que se encuentran cerca de ciudades importantes, son áreas con menor grado de urbanización comparadas con la localidad de El Refugio, cuya principal actividad económica es la agricultura. Existen reportes en la literatura que indican que los niveles de PBDEs en el aire de zonas urbanas o industriales son mayores que en áreas rurales o remotas (Hale y col., 2003). A pesar de estar ubicadas cerca de grandes ciudades, las condiciones y estilo de vida de los niños de San Juan Tilapa y de la zona conurbana a la ciudad de Chihuahua se asemeja más a la de una comunidad rural, pues de acuerdo con el cuestionario de exposición que se les aplicó el uso de productos de consumo que contienen retardantes de flama tales como computadoras, celulares y alfombras entre otros, es menor.

Si bien las rutas de exposición para las localidades de Milpillás, Chihuahua y San Juan Tilapa posiblemente sean las mismas, los escenarios de exposición no son totalmente similares. Los padres de familia de alrededor del 30% de los niños de Milpillás reportaron que sus hijos realizaban actividades de recolección de basura y/o eran pepenadores. El 50% de estos niños, cuyas edades fluctúan entre 10 y 16 años, presentaron los niveles más altos de PBDEs en Milpillás. Aunado a lo anterior los niños que recolectan y/o pepenan basura presentaron niveles mayores de los compuestos BDE-47, BDE-99 y BDE-100 y de la Σ PBDEs que los niños que no realizan esta actividad (U-Mann-Whitney, $p < 0.05$). Esta diferencia podría explicarse a que los niños pepenadores están más expuestos a la inhalación de polvos conteniendo PBDEs, los cuales podrían estar siendo liberados en estos sitios. En nuestro conocimiento solo hay un estudio el cual fue realizado en Nicaragua, que ha medido las concentraciones de PBDEs en poblaciones que viven cerca de tiraderos de residuos municipales. Las concentraciones de estos contaminantes en suero de adolescentes nicaragüenses de 12 a 15 años de edad, que viven y trabajan en un sitio de disposición de residuos industriales y domésticos fueron más altos que los cuantificados en adolescentes que no viven en el sitio, pero que trabajan en él o que no viven ni trabajan en el mismo (Faldt E., y col.). La concentración promedio de la sumatoria de los congéneres BDE-47, BDE-99, BDE-100 y BDE-153 (11.9 ng/g de lípidos) en los niños recolectores y/o pepenadores de Milpillás fue 5.6 veces menor a la de los adolescentes nicaragüenses que viven cerca del basurero y trabajan en él; sin embargo fue similar al nivel promedio medido en los adolescentes nicaragüenses que viven cerca del basurero pero que no trabajan en él (10.5 ng/g de lípidos) y a los que viven en una área urbana remota (14.1 ng/g de lípidos). Estas diferencias podrían ser atribuidas a varios factores, tales como el tiempo que tienen realizando la actividad de pepena, la intensidad y frecuencia con que realizan esta actividad, el tipo de manipulación que hacen de los residuos, las características de los basureros y el tipo de residuos que hay en estos sitios, entre otras. Es importante resaltar que este análisis se realizó únicamente para la localidad de Milpillás, ya que en las demás comunidades, los padres de familia no reportaron que ellos o sus hijos realizaran este tipo de actividades. Se requieren estudios adicionales que estimen

cuanto de los niveles séricos medidos en los niños pepenadores, son aportados por realizar este tipo de trabajo.

En la localidad de San Juan Tilapa, el único congéner que tuvo valores superiores al límite de detección del método fue el BDE-47. Es importante mencionar que una limitante metodológica fue el volumen de muestra recolectado en las localidades de Chihuahua y San Juan Tilapa, éste fue menor al obtenido en las localidades de Milpillas y El Refugio; por lo tanto no se descarta la posibilidad de que éste haya sido determinante y por ello se obtuvieron concentraciones séricas de PBDEs por debajo del límite de detección del método.

Comúnmente el BDE47 es el congéner predominante en muestras de tejidos humanos, seguido por el BDE-99 y el BDE153, estos congéneres son los principales constituyentes de la mezcla comercial PentaBDE (Sjödin y col., 1998). En nuestro estudio el congéner mas abundante fue el BDE-47, el cual representó alrededor del 75% de la Σ PBDEs, seguido por los compuestos BDE-153, BDE-99 y BDE-100.

El perfil de los congéneres de PBDEs encontrado en el suero de los niños evaluados, fue similar al detectado en muestras de suero de otros estudios (Güvenius y col., 2003; Julander y col., 2005). Por ejemplo, Thomsen y col. (2002) también reportaron que el congéner BDE-47 fue predominante en suero de niños noruegos de 4 a 14 años de edad, seguido por los compuestos BDEs 153, BDE-100, BDE-154 y BDE-99; este mismo patrón lo observó Fischer y col. (2006) en un estudio que realizó en niños de una familia norteamericana. Sin embargo, Fangstrom y col. (2005) en un estudio realizado en niños de 7 años de edad en las Islas Faroe reportó como el congéner más abundante al BDE-153 seguido por los bromados BDE-209, BDE-47, BDE-99 y BDE-100. Los niños de Milpillas que recolectan y/o pepenan basura presentaron un patrón de abundancia similar al reportado por Faldt E. y col., en un estudio realizado en adolescentes nicaragüenses que viven cerca del basurero y trabajan en él. Sin embargo éste patrón de abundancia fue diferente al reportado en el estudio realizado por López y col. (2006) en plasma de mujeres potosinas, en el cual el congéner

predominante fue el BDE-209, seguido por el BDE-47, BDE-153, BDE-100, BDE-99 y BDE-154.

Estudios recientes realizados en poblaciones humanas han reportado un incremento en la abundancia del BDE-153 y en algunos casos este congéner ha reemplazado al BDE47 como el predominante (Fångström y col., 2005; Jonson-Restrepo y col., 2005; Thuresson y col., 2006). No hay una explicación definitiva a este cambio en el perfil, se sugiere que estas variaciones podrían deberse a que las fuentes de exposición han cambiado. En la Figura 10, se compara el patrón de los congéneres de PBDEs en suero de los niños evaluados en este estudio, con los patrones encontrados en otras matrices. El patrón obtenido en este estudio fue similar al reportado por otros autores en matrices humanas de poblaciones abiertas.

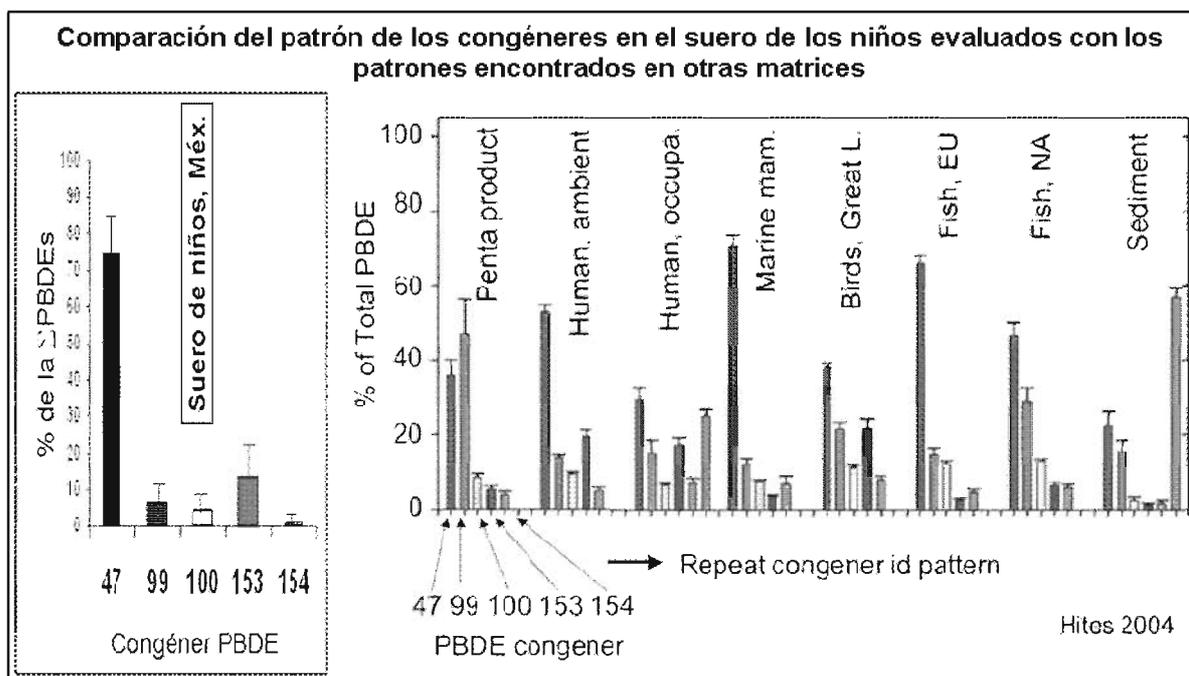


Figura 10. Comparación del patrón de los congéneres polibromados en suero de los niños evaluados con respecto a los encontrados en otras matrices. Las localidades Milpillás, San Luís Potosí (n = 64); zona conurbana a la ciudad de Chihuahua, Chihuahua (n = 28) y San Juan Tilapa, Estado de México (n = 43) se encuentran alrededor de 1 a 2 km. de un tiradero de residuos sólidos. La localidad de El Refugio, San Luís Potosí (n = 47) es una zona agrícola. n = número de muestras. Σ PBDEs = Sumatoria de los congéneres BDEs: 47, 99, 100, 153, 154 y 209. P25 P50 P75 P95 = Percentiles 25, 50, 75 y 95.

En el ser humano, las hormonas tiroideas son esenciales para el desarrollo de tejidos tales como el cerebro, corazón, riñones y oído y en el metabolismo energético. Es conocido que una deficiencia en los niveles de la hormona tiroxina (T4) durante etapas críticas del desarrollo del cerebro humano, podría provocar daños neurológicos incluyendo retraso mental (Porterfield, 2000). Con respecto a los resultados obtenidos del perfil tiroideo, el 91% de los niños presentaron niveles normales de TSH, el 83% concentraciones normales de T3 libre y el 97% valores normales de T4 libre. El 1% de los niveles de TSH y T3 estuvieron abajo del intervalo normal. Para el caso particular de San Juan Tilapa, el 12 % de los niños presentaron concentraciones séricas de T4 por arriba del valor normal, este resultado es de llamar la atención, no se puede explicar por las concentraciones detectadas de PBDEs en suero pues no se encontró asociación entre éstos y las hormonas tiroideas, por lo que particularmente en ese sitio existen otros factores que están afectando el perfil tiroideo de los niños.

Considerando el total de los niños evaluados se observó una correlación de Spearman positiva, estadísticamente significativa entre los niveles séricos de T3 y TSH ($r=0.21$, $p<0.01$), es decir, los niveles de TSH se incrementaron al aumentar los de T3 libre. Al realizar este mismo análisis por localidad, en Milpillas se encontró una correlación negativa entre los niveles de TSH y T3 libre ($r=-0.900$, $p<0.01$), es decir, los niveles de TSH aumentan al disminuir los niveles de T3 libre o viceversa, mientras que en Chihuahua se encontró una correlación positiva entre los niveles de TSH y T4 libre ($r=0.779$, $p<0.01$). Clínicamente, el aumento de las concentraciones de TSH y la disminución de las de T3 y T4 indican un hipotiroidismo, mientras que un hipertiroidismo se presenta cuando los niveles de TSH están disminuidos y los de T3 y T4 aumentados.

Estudios en roedores han demostrado que los PBDEs reducen los niveles séricos de las hormonas tiroideas (Zhou y col., 2001, 2002; Zoeller y col., 2002; Hallgren y col., 2001, 2002; Azmal y col., 2003; Legler y col., 2003; Boas y col., 2006). A pesar de que la mayoría de los niños de las cuatro localidades, presentaron niveles séricos de

las hormonas tiroideas dentro de los intervalos fisiológicos normales, se observaron algunas correlaciones estadísticamente significativas. Cuando se evaluó a la población total de los niños, por ejemplo los niveles de T3 libre disminuyeron al aumentar las concentraciones del BDE-47, del BDE-153 y de la Σ PBDEs ($r = -0.20$, $p < 0.01$; $r = -0.20$, $p < 0.01$; $r = -0.17$, $p < 0.05$). Al analizar los datos por comunidad, se observó que en Milpillan, los niveles de T3 libre disminuyeron al aumentar los niveles de la Σ PBDEs y del BDE-153 ($r = -0.26$, $p < 0.05$; $r = -0.26$, $p < 0.05$); en San Juan Tilapa, los niveles de T4 libre se incrementaron al aumentar los niveles del BDE-47 y de la Σ PBDEs ($r = 0.45$, $p < 0.01$; $r = 0.39$, $p < 0.05$); y en El Refugio, los niveles de T4 libre disminuyeron al aumentar las concentraciones del BDE-99 y del BDE-153 ($r = -0.31$ ($p < 0.5$); $r = -0.29$, $p < 0.05$). Estos resultados, son similares a los reportados por Julander y col. (2005) en un estudio ocupacional, en el cual los niveles de las hormonas tiroideas estuvieron dentro de los intervalos fisiológicos, sin embargo se observó una tendencia hacia el aumento de los niveles de T4 y se encontraron correlaciones positivas entre los niveles de las hormonas (T3, T4 y TSH) y algunos congéneres de los PBDEs.

A pesar de las correlaciones estadísticas significativas obtenidas entre las concentraciones de las hormonas tiroideas y de los PBDEs; los niños con los valores más altos de PBDEs (arriba del percentil 95) presentaron niveles normales de las hormonas tiroideas; y los niños con las concentraciones de las hormonas fuera de los valores normales no fueron explicados por los niveles de PBDEs. Esto indica que no hay una asociación entre los niveles de PBDEs y las hormonas tiroideas y las correlaciones obtenidas solo deben tomarse como tendencias. Sin embargo los niños que tuvieron valores fuera del intervalo de referencia son un indicador de un probable riesgo, por lo cual es fundamental que se realicen estudios que determinen su causalidad. Otros compuestos químicos o factores que pueden alterar la circulación de las hormonas tiroideas, ya sea incrementando sus concentraciones o disminuyéndolas, son algunos fármacos que contienen estrógenos, metadona, clofibrato, heroína y tamoxifeno, andrógenos, glucocorticoides, anticonvulsivos, furosemina, ácido mefenámico y salicilatos; otros contaminantes químicos como los PCBs, DDT, HCB, BPA, dioxinas, fenoles, ftalatos, perclorato y otros retardantes de

flama como el TBBPA. Además factores tales como la hepatopatía, porfiria, infección por VIH, herencia y enfermedades agudas y crónicas (Boas y col., 2006).

En modelos experimentales, Darnerud y col. (2004) investigaron la relación entre los niveles plasmáticos de PBDEs y de la tiroxina, para lo cual se administraron dosis orales a ratas durante dos semanas; y con base a los efectos del BDE-47 sobre los niveles plasmáticos de la T4 (total y libre), sugirieron un NOAEL (nivel de efecto-no observado) de 200 µg/g de lípidos. Estos investigadores compararon este NOAEL con los niveles plasmáticos humanos, calcularon un margen de seguridad para el BDE-47 de 4000 veces (arriba del NOAEL), para un norteamericano con una concentración sérica de 45 ng/g de lípidos. Considerando la concentración máxima obtenida en nuestro estudio para este mismo congéner (25 ng/g de lípidos), el margen de seguridad es de alrededor de 8,000 veces más alto que el NOAEL (200,000/25). Sin embargo, estos resultados son validos para individuos adultos mientras que los niños podrían ser más susceptibles.

Algunos investigadores han demostrado que los niños más pequeños están más expuestos a los PBDEs que los adultos; por ejemplo Thomsen y col. (2002) en un estudio de cohorte realizado en Noruega, encontraron que los niños de 0 a 4 años de edad presentaron los valores más altos de PBDEs; y Fischer y col. (2006) en un estudio más reciente encontraron que los niños en una familia norteamericana tuvieron niveles de 2 a 5 veces más altos que el de los padres. Por otro lado, en nuestra investigación, considerando la población total de los niños evaluados se observó una correlación negativa estadísticamente significativa entre el BDE-100 y la edad de los niños ($r = -0.18$, $p > 0.05$), es decir las concentraciones séricas de este congéner aumentaron al disminuir la edad. Mientras que si se analiza por localidad, en San Juan Tilapa se observó una tendencia similar entre la edad y las concentraciones del BDE-47 ($r = -0.42$, $p < 0.01$) y entre los de la Σ PBDEs ($r = -0.44$, $p < 0.01$). Es importante mencionar que solo en San Juan Tilapa se incluyeron dentro de la población de estudio a niños de nivel preescolar (menores de 6 años), los cuales representaron alrededor del 30% de los niños evaluados en esta localidad;

esto podría explicar porque solo en esta comunidad se encontró una asociación entre los niveles de PBDEs y la edad y no así para el resto de las localidades estudiadas. Estos resultados sugieren que los niños más pequeños están más expuestos a los PBDEs que los niños más grandes y que los adultos. En nuestro estudio adicionalmente se cuantificaron los niveles de PBDEs en algunos de los padres (n = 12) de los niños de San Juan Tilapa, el 67% de ellos presentaron niveles abajo del límite de detección y el valor de la media fue de 2.5 ng/g de lípidos, mientras que en los niños (n = 43) fue de 2.7 ng/g de lípidos.

¿Porque los niños más pequeños tienen niveles mayores de PBDEs? La exposición a los polvos de las casas podría ser una explicación; ya que algunos estudios indican que los polvos de las casas contienen niveles importantes de PBDEs (Jones-Otazo y col., 2005; Rudel y col., 2003; Schecter y col., 2005; Stapleton y col., 2005; Wilford y col., 2005), las fuentes de polvo no fueron identificadas, se podría incluir una multitud de materiales interiores, como alfombras y/o tapetes, muebles y cortinas. Considerando que los niños más pequeños pasan la mayor parte de su tiempo dentro de sus casas, la inhalación e ingestión de polvos caseros podría representar una fuente de exposición importante para ellos (Butt y col., 2004; Wilford y col., 2004; Stapleton y col., 2005). Para ello se requieren estudios adicionales que cuantifiquen las concentraciones de PBDEs en los niños más pequeños y en polvos residenciales.

Otra ruta de exposición potencial es la ingesta de alimentos contaminados con PBDEs, como la leche materna, así es que el tiempo de lactancia juega un papel muy importante en la exposición a estos contaminantes. Aunado a lo anterior ciertos patrones de comportamiento asociados con la niñez, tales como andar a gatas, meterse los dedos y objetos extraños a la boca, pueden contribuir a que los niños estén mas expuestos. La falta de información sobre las concentraciones de PBDEs en polvos de casas y alimentos en México impide estimar su contribución a la exposición total de PBDEs.

En la Tabla 15, se presenta la ingesta diaria estimada de PBDEs para varios grupos de edad de la población general en Canadá. La ingesta se calculó considerando las concentraciones de PBDEs más altas reportadas en muestras de aire, polvos, agua, alimentos y leche humana. Los alimentos (incluyendo la leche humana) representó la principal fuente de exposición para la mayoría de los grupos de edad. El grupo de edad de 0-6 meses presentó la exposición potencialmente más grande y la ingesta de PBDEs disminuyó al aumentar la edad (Minister of Health Canada, 2006).

Tabla 15. Ingesta diaria estimada ($\mu\text{g}/\text{kg}$ peso día) de PBDEs por grupos de edad

Ruta de exposición	Ingesta estimada ($\mu\text{g}/\text{kg}$ peso día) de PBDEs para varios grupos de edad						
	0 a 6 meses			0.5 a 4 años	5-11 años	12 a 19 años	20 a 59 años
	Alimento (fórmula)	Lactancia	Alimento (no fórmula)				
Aire ambiente	7.7×10^{-5}	7.7×10^{-5}	7.7×10^{-5}	1.7×10^{-4}	1.3×10^{-4}	7.3×10^{-5}	6.3×10^{-5}
Aire interior	4.4×10^{-4}	4.4×10^{-4}	4.4×10^{-4}	9.3×10^{-4}	7.3×10^{-4}	4.1×10^{-4}	3.6×10^{-4}
Agua para beber	1.4×10^{-3}	2.4	5.2×10^{-1}	5.9×10^{-1}	4.6×10^{-1}	2.6×10^{-1}	2.3×10^{-1}
Alimento			2.0×10^{-2}	5.8×10^{-1}	4.8×10^{-1}	2.7×10^{-1}	2.6×10^{-1}
Sueo/polvo	2.3×10^{-1}	2.3×10^{-1}	2.3×10^{-1}	3.6×10^{-1}	1.2×10^{-1}	2.8×10^{-2}	2.4×10^{-2}
Ingesta total	2.3×10^{-1}	2.6	2.5×10^{-1}	9.5×10^{-1}	6.0×10^{-1}	3.0×10^{-1}	2.3×10^{-1}

Fuente: Minister of Health Canada (2006).

Considerando a la población total de los niños evaluados se observó que las concentraciones del BDE-47 fueron mayores cuando el tiempo de lactancia que recibieron los niños fue más prolongado ($r=0.18$, $p<0.05$); y cuando el uso y número de aparatos electrónicos en sus casas fue mayor ($r = 0.22$, $p<0.01$); contradictoriamente a lo esperado, las concentraciones del BDE-154 presentaron una correlación negativa ($r = - 0.25$, $p<0.01$) con el total de aparatos electrónicos empleados. No se observaron asociaciones al comparar las diferentes variables por comunidad, a excepción de Milpillas, en esta localidad los niveles del BDE-99 y de la Σ PBDEs fueron mayores cuando el tiempo de lactancia fue más prolongado ($r=0.30$, $p<0.05$; $r=0.32$, $p<0.05$); los niveles del BDE-153 y del BDE-154 fueron mayores al

aumentar el tiempo de residencia de los niños en la localidad ($r=0.42$, $p<0.01$; $r=0.31$, $p<0.05$) y las concentraciones del BDE-47 fueron más altos al aumentar el número de aparatos electrónicos en sus casas ($r=0.37$, $p<0.01$).

La exposición a PBDEs en humanos a través de la dieta, principalmente por el consumo de pescado y alimentos grasos, es apoyada por los niveles detectados de estos compuestos en peces de aguas dulces (26 a 36,900 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de lípidos) como lucio, percha y trucha (Darnerud, 2001). También se ha reportado su presencia en grasa de pollo (1.8 a 39 ng/g de lípidos), en leche de vaca (2.5 a 4.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de grasa), en espinacas, papas y zanahorias (Hites, 2004; Hale y col., 2003; Law y col., 2003; Darnerud, 2001; Ohla y col., 2002). Y en huevos (Blake, 2005). En un estudio reportado por Schechter y col. (2004) en el cual se cuantificaron 13 congéneres en 30 alimentos diferentes de supermercados de los Estados Unidos de Norteamérica, las concentraciones más altas que se detectaron fueron en pescados y mariscos (8.5 a 3,078 pg/g de peso húmedo) y cantidades menos significativas en carnes, productos lácteos y huevos, (Schechter y col., 2004). Un estudio realizado en Suecia, en 110 hombres que consumen frecuentemente pescado del mar Báltico, encontró una correlación negativa significativa entre los niveles de TSH y las concentraciones séricas de BDE47 (de 0.2 a 11.7 pmol/g de lípidos) (Hagmar y col., 2001).

Algunos estudios han reportado correlaciones positivas entre los niveles de PBDEs y el consumo de pescado (Sjödín y col., 2000; Jakobsson y col., 2002). Considerando el total de niños evaluados y con base a la información recabada del cuestionario aplicado, los niños mexicanos que si consumen pescado y mariscos presentaron niveles mayores del BDE-100 que los que no los consumen; y contradictoriamente a lo esperado, los niños que no comen atún presentaron mayores niveles del BDE-47 que los que si consumen este alimento (U-Mann-Whitney ($p<0.05$)). Por comunidad, en Milpillas los niños que consumen pescado y mariscos tuvieron niveles mayores de los compuestos BDE-47 y BDE-100 y de la ΣPBDEs que los que no los consumen (U-Mann-Whitney ($p<0.05$)); y los niños que no toman leche de vaca presentaron niveles mayores del BDE-100 con respecto a los que si la toman (U-Mann-Whitney

($p < 0.05$). En El Refugio, comparativamente los niños que comen atún presentaron niveles mayores de los congéneres BDE-100 y BDE-153, que los que no consumen este tipo de alimento (U-Mann-Whitney ($p < 0.05$)).

Los resultados contradictorios obtenidos en el análisis estadístico entre los niveles de PBDEs y las variables de consumo de atún y consumo de leche de vaca, podrían deberse a que el porcentaje de los niños que no consumen estos alimentos (entre el 8% y 14%) con respecto a los niños que si lo hacen fue significativamente menor, esto limitó la interpretación de estas comparaciones.

No se encontró ninguna asociación entre los niveles de PBDEs y variables como sexo del niño, horas clases por semana de computación, horas por semana que el niño juega en videojuegos o ve televisión.

De igual manera el porcentaje del congéner BDE-154 detectado en las muestras de suero (4%) limitó la interpretación de la correlación negativa obtenida entre los niveles del BDE-154 y el total de uso de aparatos electrónicos.

En las localidades estudiadas se encontraron niños con valores extremos de PBDEs, los cuales no fueron explicados por las variables evaluadas en el cuestionario de exposición tales como edad, tiempo de lactancia, tiempo de residencia, hábitos alimenticios y número de aparatos electrónicos, entre otras. Sin embargo, sin conocer cual es la fuente de exposición y solo con base a las concentraciones séricas de PBDEs detectadas, la probabilidad de que estos niños presenten efectos a la salud es muy alta. Algunos estudios han reportado valores extremos en distribuciones de PBDEs en sangre (van Bavel y col., 2002) y en leche de mujeres canadienses (Ryan y col., 2002).

Dado el aumento en el uso de productos que contienen PBDEs en la sociedad actual y a la vulnerabilidad de los niños a los efectos de las sustancias químicas contaminantes. Se requieren estudios adicionales que cuantifiquen los niveles de compuestos polibromados en poblaciones abiertas, es decir que se incluyan niños

pequeños, mamás, niños que se encuentran expuestos a condiciones de alto riesgo como los niños pepenadores, así como también estudios para cuantificar las concentraciones de PBDEs en polvos residenciales y en alimentos, con la finalidad de tratar de identificar y caracterizar las fuentes y las rutas de exposición de los PBDEs, que permitan generar programas precautorios para minimizar la exposición a estos compuestos. La tarea no es fácil, sobre todo en este tipo de contaminantes que bien ya han sido catalogados como ubicuos.

V. BIBLIOGRAFÍA

Akmal M. (2003). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): new pollutants – old diseases. *Clinical Medicine & Research* 1(4), 281-290.

Alaee M., Wenning R.J. (2002). The significance of brominated flame retardants in the environment: current under standing, issues and challenges. *Chemosphere* 46, 579-582.

Alaee M., Bunce N., Ikonomidou M., Lebeuf M., Metcalf C., Muir D., Ryan J., Sergeant D., Solomon K., Wakeford B., Whittle M. (2002). Impact of polybrominated diphenylethers to Canadian environment and health of Canadians. TSRI report 237, National Water Research Institute, Burlington, Ontario, Canada.

Alaee M., Arias P., Sjodin A., Bergman A. (2003). An overview of commercially used brominated flame, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environment International*. 29, 683-689.

Andersson Ö., Blomkvist G. (1981). Polybrominated aromatic pollutants found in fish in Sweden. *Chemosphere* 10, 1051-1060.

ATSDR (2004). Toxicological profile for polybrominated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers. Agency for Toxic Substances and Diseases Registry. U.S. Public Health Service. Atlanta, GA.

Bahn A., Mills J., Zinder P., Gann P., Houten L., Bialik O., Hollman L., Utiger R. (1980). Hypothyroidism in workers exposed to polybrominated biphenyls. *The New England Journal of Medicine* 302, 31-33.

Birnbaum L.B., Staskal D. (2004). Brominated flame retardants: Cause for concern? *Environmental Health Perspective* 112 (1), 9-17.

Birnbaum L.B., Cohen E.A. (2006). Polybrominated diphenyl ethers: A case study for using biomonitoring data to address risk assessment questions. *Environmental Health Perspective* 114 (11), 1770-1775.

Blake A. (2005). The next generation of POPs: PBDEs and lindane. Keep promise, eliminate POPs report. IPEN.

Bocio A., Llobert J.M., Domingo J.L., Corbella J., Teixido A., Casas C. (2003). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in foodstuffs: human exposure through the diet. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51, 3191-3195.

Boas M., Feldt-Rasmussen U., Skakkebaek N.E., Main K.M. (2006). Environmental chemicals and thyroid function. *European Journal of Endocrinology* 154, 599-611.

Bradman A., Fenster L., Sjödin A., Jones R.S., Patterson D.G., Eskenazi B. (2007). Polybrominated diphenyl ether in the blood of pregnant women living in an agricultural community in California. *Environmental Health Perspective* 115 (1), 71-74.

Braekevelt E., Tittlemier S.A., Tomy G.T. (2003). Direct measurement of octanol-water partition coefficients of some environmentally relevant brominated diphenyl ether congeners. *Chemosphere* 51 (7), 563-567.

Branchi I., Capone F., Alleva E., Costa L.G. (2003). Polybrominated diphenyl ethers: neurobehavioral effects following developmental exposure. *Neurotoxicology* 24, 449-462.

Branchi I., Capone F., Vitalone A., Madia F., Santucci D., Alleva E., Costa L.G. (2005). Early developmental exposure to BDE-99 or Aroclor 1254 affects

neurobehavioral profile: interference from the administration route. *Neurotoxicology* 26, 183-192.

BSEF (2001). Brominated Flame Retardants in consumer and commercial product. Bromine Science and Environmental Forum.

Burreau S., Zebuhr Y., Broman D., Ishaq R. (2004). Biomagnification of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) studied in pike (*Esox lucius*), perch (*Perca fluviatilis*) and roach (*Rutilus rutilus*) from the Baltic Sea. *Chemosphere* 55, 1043-1052.

Butt C.M, Diamond M.L, Truong J., Ikonomou M.G., ter Schure A. (2004). Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers in Southern Ontario as measured in indoor and outdoor window organic films. *Environmental Science & Technology* 38, 724-731.

Chen G., Bunce N. (2003). Polybrominated diphenyl ethers as Ah receptor agonists and antagonists. *Toxicology Science* 76, 310-320.

de Wit C.A. (2002). An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* 46, 583-624.

Darnerud P.O., Wong J., Bergman A. (2005). Common viral infection affects pentabrominated diphenyl ether (PBDE) distribution and metabolic and hormonal activities in mice. *Toxicology* 210, 159-167.

Darnerud P.O., Aune M., Larsson L., Hallaren S. (2004). Serum PBDE levels in exposed rats in relation to effects on thyroxine homeostasis. *Organohalogen Compounds* 66, 3977-3981.

Darnerud P.O. (2003). Toxic effects of brominated flame retardants in man and wildlife. *Environmental Health Perspective* 29, 841-853.

Darnerud P.O., Eriksen G.S., Johannesson T., Larsen P.B., Viluksela M. (2001). Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure, and toxicology. *Environmental Health Perspective* 109 (1), 49-68.

Deegan D. (2003). Brominated flame retardants to be voluntary phased out, in: *Environmental News*, publication of the Environmental Protection Agency. Washington D.C.

Diliberto, J.J., Staskal D.F., Hakk H., Bauer D., Birnbaum L.S. (2006). Role of protein binding in the urinary excretion of PBDEs in mice. *Organohalogen Compounds* 68, 1975-1978.

Dodder N.G. Strandberg B., Hites R.A. (2000). Concentrations and spatial variations of polybrominated diphenyl ethers in fish and air from northeastern United States. *Organohalogen Compounds* 47, 69-72.

Ellinger S., Hackenberg R., Ballschmitter K. (2003). Determination of log K_{ow} values for polybrominated diphenyl ether (PBDEs) by capillary gas Chromatography and by total surface area (TSA) correlation. *Organohalogen Compounds* 63, 341-344.

Eriksson P., Fischer C., Karlsson H., Fredriksson A. (2003). Interaction between a brominated flame-retardant (PBDE 99) and an ortho-substituted PCB (PCB 52). *The Toxicologist* 72, 323.

Eriksson P., Jakobsson E., Fredriksson A. (2001). Brominated flame retardants: A novel class of developmental neurotoxicants in our environment? *Environmental Health Perspective* 109, 903-908.

Eriksson P., Viberg H., Jakobsson E., Orn U., Fredriksson A. (2002). A brominated flame retardant, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether: uptake, retention, and induction of neurobehavioral alterations in mice during a critical phase of neonatal brain development. *Toxicology Science* 67, 98-103.

EURACHEM, Eurachem Guide (1998). Europa Analytical Chemistry. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. A focus for analytical chemistry in Europe.

Faldt E., Cuadra S., Athanasiadou M., Bergman A., Jakobsson K., (2005). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in serum from teenagers working in a waste disposal site, and in women with high consumption of fish in Nicaragua. *Organohalogen Compounds* 67, 502-504.

Fangstrom B., Strid A., Grandjean P., Weihe P., Bergman A. (2005). Retrospective study of PBDEs and PCBs in human milk from the Faroe Islands. *Environmental Health: A Global Access Science Source*.

<http://www.ehjournal.net/content/4/1/12>

Fangstrom B., Hovander L., Bignert A., Athanassiadis I., Linderholm L., Grandjean P., Weihe P., Bergman A. (2005). Concentrations of polybrominated diphenyls ethers, polychlorinated biphenyls, and polycholobiphenyls in serum from pregnant Faroese women and their children 7 years later. *Environmental Science & Technology* 24: 9457-9463.

Fischer D., Hooper K., Athanasiadou M., Athanassiadis L., Bergman A. (2006). Children show highest levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in a California family of four – A case study. *Environmental Health Perspective* 114(10): 1581-1584.

Gerecke A.C., Hartman P.C., Heeb N.V., Kohler M. (2005). Anaerobic degradation of decabromodiphenyl ether. *Environmental Science & Technology* 39, 1078-1083.

Geyer H.J., Schramm K., Darnerud P.O., Aune M., Feicht A., Fried K., Lenoir D., Schmid P., McDonald T.A. (2004). Terminal elimination half-lives of the brominated flame retardants TBBPA, HBCD, and lower brominated PBDEs in humans. *Organohalogen Compounds* 66, 3867-3872.

Gill U., Chu I, Ryan J.J. Feeley M. (2004). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): human tissues levels and toxicology. *Rev. Environmental Contamination and Toxicology* 183, 55-97.

Guvenius M., Aronsson A., Ekman-Ordeberg G., Bergman A., Noren K. (2003). Human prenatal and postnatal exposure to polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated Biphenyls, polychlorobiphenylols, and pentachlorophenol. *Environmental Health Perspective* 111 (9), 1235-1241.

Haddow J.E., Palomaki G.E., Allan W.C., Williams J.R., Knight G.J., Gagnon J., O'Heir C.E., Mitchell M.L., Hermos R.J., Waisbren S.E., Faix J.D., Klein R.Z. (1999). Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *The New England Journal of Medicine* 341, 549-555.

Hagmar L., Björk J., Sjödin A., Bergman A., Erfurth E-M. (2001). Plasma levels of persistent organohalogenes and hormone levels in adult male humans. *Arch. Environmental Health* 56, 138-143.

Hakk H., Huwe J., Lorentzsen M. (2001). A mass balance study of a commercial pentabromodiphenyl ether mixture in male Sprague-Dawley rats. *Organohalogen Compounds* 52, 5-8.

Hakk H., Larsen G., Klasson-Wehler E. (1999). Tissue disposition, excretion, and metabolism of 2,2', 4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99) in male Sprague-Dawley rats. *Organohalogen Compounds* 40, 337-340.

Hakk H., Larsen G., Klasson-Wehler E. (2002). Tissue disposition, excretion and metabolism of 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99) in the male Sprague-Dawley rat. *Xenobiotica* 32 (5), 369-382.

Hakk H., Janice H., Gerald L. (2005). An ADME study with 2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenyl ether (BDE-154) in male Sprague-Dawley rats. Abstract *Organohalogen Compounds*.

<http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm>

Hale R.C., La Guardia M.J., Harvey E.P., Mainor T.M., Duff W.H., Taylor M.O. (2001). Polybrominated diphenyl ether flame retardants in Virginia freshwater fishes (USA). *Environmental Science & Technology* 35, 4585-4591.

Hale R., La Guardia M., Harvey E., Gaylor M., Matteson-Mainor T., Duff W., (2001). Flame retardants: persistent pollutants in land-applied sludges. *Nature* 412, 140-141.

Hale R., Alae M., Manchester-Nessving J., Stapleton H.M., Ikononou M.G. Arias P. (2003). Polybrominated diphenyl ether flame retardants in the North American environment. *Environment International* 29, 771-779.

Hallgren S., Hakansson H., Darnerud P.O. (2001). Effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) on thyroid hormone and vitamin A levels in rats and mice. *Arch. Toxicology* 75, 200-208.

Harrad S., Wijesekera R., Hunter S., Halliwell C., Baker R. (2004). Preliminary assessment of U.K. human dietary and inhalation exposure to polybrominated diphenyl ethers. *Environmental Science & Technology* 38, 2345-2350.

Hites R.A. (2004). Polybrominated diphenyl ethers in the environment and people: A Meta-Analysis of concentrations. *Environmental Science & Technology* 38, 945-956.

Huwe J.K., Hakk H., Lorentzen M. (2002). A mass balance feeding study of a commercial octabromodiphenyl ether mixture in rats. *Organohalogen Compounds* 58:229-223.

Huwe J. (2005). Bioaccumulation of decabrodiphenyl ether (BDE-209) from the diet into Sprague-Dawley rats. *Organohalogen Compounds* 67, 633-635.

Hovander L., Athanasiadou M., Asplund L., Jensen S., Klasson-Wehler E. (2000). Extraction and cleanup methods for analysis of phenolic and neutral organohalogenes in plasma. *Journal of Analytical Toxicology* 24, 696-703.

IARC (1990). Monographs: some flame retardants and textile chemical, and exposure in the textile manufacturing industry. Decabromodiphenyl oxide. International Agency for Research on Cancer. 73-84.

Ikonomou M.G., Rayne S., Addison R.F. (2002). Exponential increases of the brominated flame retardants, polybrominated diphenyl ethers, in the Canada Arctic from 1981 to 2000. *Environmental Science & Technology* 36, 1886-1892.

Janssen S. (2005). Brominated Flame Retardants: rising levels of concern. *Health Care*.

Jakobsson E., Thuresson K., Rylander L., Sjobin A., Hagmar L., Bergman A. (2002). Exposure to polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol A among computer technicians. *Chemosphere* 46, 709-716.

Jaward F.M., Meijier S.N., Steinnes E., Thomas G.O., Jones K.C. (2004). Further studies on the latitudinal and temporal trends of persistent organic pollutants in Norwegian and U.K. background air. *Environmental Science & Technology* 38, 2523-2530.

Jones-Otazo H.A., Clarke J.P., Diamond M.L., Archbold J.A., Ferguson G., Harner T., Richardson G.M., Ryan J.J., Wilford B. (2005). Is house dust the missing exposure pathway for PBDEs? An analysis of the urban fate and human exposure to PBDEs. *Environmental Science & Technology* 39, 5121-5130.

Julander A., Karlsson M., Hagström K., Ohlson G., Engwall M., Bryngelsson I-L., Westberg H., van Bavel B. (2005). Polybrominated diphenyls ethers-plasma levels and thyroid status of workers at an electronic recycling facility. *Int. Arch. Occupational and Environmental Health* 78, 584-592.

Kuriyama S.N., Fidalgo-Neto A.A., Grande S.W., Akkoc Z., de Souza C.A.M., Chahoud I. (2004). Thyroid hormone levels and hepatic enzyme activity in lactating dams alter gestational exposure to low dose PBDE 47. *Organohalogen compounds* 66, 3901-3906.

Kuriyama S.N., Talsness C.E., Grote K., Chahoud I. (2005). Developmental exposure to low dose PBDE 99: 1-effects on male fertility and neurobehavior in rat offspring. *Environmental Health Perspective* 113, 149-154.

Law R.J., Alaei M., Allchin C.R., Boon J.P., Lebeuf M., Lepom P., Stern G.A. (2003). Levels and trends of polybrominated and other brominated flame retardants in wildlife. *Environment International* 29, 757-770.

Legler J., Brouwer A. (2003). Are brominated flame retardants endocrine disruptors? *Environment International* 29, 879-885.

Leonards P.E.G., Santillo D., Brinden K., Hesseligen J.V., de Boer J., Johnston P. (2001). Brominated flame Retardants in office dust samples. The Second Internacional Workshop on Brominated Flame Retardants (BFR). 299-302.

Lindberg P., Sellstrom U., Haggberg L., de Wit C.A. (2004). Higher brominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane found in eggs of peregrine falcons (*Falco peregrinus*) breeding in Sweden. *Environmental Science & Technology* 38, 93-96.

Lind Y., Darnerud P.O., Aune M., Becker W. (2002). Exposure to organic environmental pollutants via the food (in Swedish). National Food Administration Sweden.

Lopez D., Athanasiadou M., Athanassiadis I., Yañez E., Diaz-Barriga F., Bergman A. (2004). A preliminary study on PBDES and HBCDD in blood and milk from Mexican women. 3rd International Workshop of Brominated Flame Retardants, Toronto, Ontario, Canada. 6-9.

Lunder S., Sharp R. (2003). Mother's milk: Record levels of toxic fire retardants found in American mother's breast milk. Washington, D.C.: Environmental Working Group. <http://www.ewg.org/reports/mothersmilk/es.php>

Madsen T., Lee S., Olle T. (2003). Growing threats – Toxic flame retardants & children's health. Environment California Research and Policy Center.

Martínez L. (2007). Evaluación de la exposición de compuestos bromados (PBDEs) en niños de CD. Juárez Chihuahua y niños de dos poblaciones del estado de San Luís Potosí. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luís Potosí.

Mazdai A., Dodder N.G., Abernathy M.P., Hites R.A., Bigsby R.M. (2003). Polybrominated diphenyl ethers in maternal and fetal blood samples. *Environmental Health Perspective* 111, 1249-1252.

McDonald T.A. (2004). Distribution of PBDE levels among U.S. women: estimates of daily intake and risk of developmental effects. 3rd International Workshop of Brominated Flame Retardants, Toronto, Ontario, Canada. 6-9.

McDonald T.A. (2002). A perspective on the potential health risks of PBDEs. *Chemosphere* 46, 745-755.

McPherson A., Thorpe B., Blake A. (2004). Brominated flame retardants in dust on computers: The case for safer chemicals and better computer design: Clean Production Action, Computer Take Back Campaign.

<http://www.cleanproduction.org>

Meerts I., van Zanden J., Luijckx E., Leeuwen-Bol I., Marsh G., Jakobsson E., Bergman A., Brouwer A. (2000). Potent competitive interaction of some brominated flame retardants and related compounds with human transthyretin *in vitro*. *Toxicology Science* 56, 95-104.

Meerts I., Letcher R.J., Hoving S., Marsh G., Bergman A., Lemmen J., van der Burg B., Brouwer A. (2001). In vitro estrogenicity of polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated PBDEs, and polybrominated bisphenol A compounds. *Environmental Health Perspective* 109, 399-407.

Meironyte D. (2002). Organohalogen contaminants in humans with emphasis on polybrominated diphenyl ethers. PhD Thesis. Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden.

Meironyte D., Norén K., Bergman A. (1999). Analysis of polybrominated diphenyl ethers in Swedish human milk. A time-related trend study, 1972-1997. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 58, 329-341.

Mörck A., Hakk H., Orn U., Klasson W. (2003). Decabromodiphenyl ether in the rat: absorption, distribution, metabolism, and excretion. *Drug Metabolism and Disposition* 31, 900-907.

NCEA (2007). External Peer Review Panel Meeting on IRIS Toxicological Review Documents for Polybrominated Diphenyls Ethers. National Center for Environmental Assessment. U.S. Environmental Protection Agency.

<http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=161970>

Ohta S., Ishizuka D., Nishimura H., Nakao T., Aozasa O., Shimidzu Y. (2002). Comparison of the polybrominated diphenyl ethers in fish, vegetables, and meats and levels in human milk of nursing women in Japan. *Chemosphere* 46, 689-696.

Örn U., Klasson W. (1998). Metabolism of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether in rat and mouse. *Xenobiotica* 28, 199-211.

Palm A., Cousins I.T., Mackay D., Tysklind M., Metcalfe C., Alaee M. (2002). Assessing the environmental fate of chemicals of emerging concern: a case study of the polybrominated diphenyl ethers. *Environmental Pollution* 117, 195-213.

Petreas M., She J., Brown R., Winkler J., Visita P., (2002). High PBDE concentrations in California Human and wildlife populations. *Organohalogen Compounds* 58, 41-44.

Petreas M., She J., Brown R., Winkler J., Windham G., Rogers E., Zhao G., Bhatia R., Charles M.J. (2003). High body burdens of 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether (BDE 47) in California women. *Environmental Health Perspective* 111, 1175-1179.

Pettersson-Julander A., van Bavel B., Engwall M., Westberg H. (2004). Personal air sampling and analysis of polybrominated diphenyl ethers and other bromine containing compounds at an electronic recycling facility in Sweden. *Journal of Environmental Monitoring* 6, 874-880.

Pop V.J., Brouwers E.P., Vader H.L., Vulsma T., van Baar A.L., de Vijlder J.J. (2003). Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3-year follow-up study. *Clinical Endocrinology* 59, 282-288.

Porterfield S. (2000). Thyroidal Dysfunction and environmental chemical – Potential impact on brain development. *Environmental Health Perspective* 108, 433-438.

Rahman F., Langford K.H., Scrimshaw M.D., Lester J.N. (2001). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *The Science of the Total Environment*. 275, 1-17.

Rice C.P., Cherniak S.M., Begnoche L., Quintal R., Hickey J. (2002). Comparisons of PBDE composition and concentration in fish collected from the Detroit River, MI and Des Plaines Rivers. *Chemosphere* 49, 731-737.

Rudel R.A., Camann J.D., Spengler J.D., Korn L.R., Brody J.G. (2003). Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. *Environmental Science & Technology* 37, 4543-4553.

Ryan J.J., Patry B. (2001). Body burdens and food exposure in Canada for polybrominated diphenyl ethers (BDE). *Organohalogen Compounds* 51, 226-229.

Ryan J.J., Patry B., Mills P., Beaudoin N. (2002). Recent trends in levels of brominated diphenyl ethers (BDEs) in human milks from Canada. *Organohalogen Compounds* 58, 173-176.

Ryan J.J. (2004). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human milk; occurrence worldwide, The Third International Workshop on Brominated Flame Retardants (BFR). 17-21.

Saltillo D., Johnston P., Brigden K. (2001). The presence of brominated flame retardants and organonin compounds in dusts collected from Parliament buildings from eight countries. Technical Report. Exeter, UK: Greenpeace Research Laboratories, Dept. of Biological Sciences, University of Exeter.

Schechter A., Pavuk M., Papke O., Ryan J.J., Birnbaum L.S., Rosen R. (2003). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in U.S. Mother's milk. Environmental Health Perspective 111, 1723-1729.

Schechter A., Papke O., Staskal D.F., Tung K.C., Ryan J.J., Rosen R. Birnbaum L. (2004). PBDE contamination of U.S. food and human milk; and PBDE, PCDD/f, PCB and levels in U.S. human blood (1973-2003). The Third International Workshop on Brominated Flame Retardants (BFR). 27-32.

Schechter A., Pöpke O., Tung K.C., Staskal D., Birnbaum L. (2004). Polybrominated diphenyl ethers contamination of United States food. Environmental Science & Technology 38, 5306-5311.

Schechter A., Papke O., Harris, T.R., Tung K.C., Musumba A., Olson J., Birnbaum L. (2006). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels in an expanded market basket survey of U.S. food and estimated PBDE dietary intake by age and sex. Environmental Health Perspective 114(10), 1515-1520.

Schriks M. (2006). Novel *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* assays elucidating the effects of endocrine disrupting compounds (EDCs) on thyroid hormone action. PhD Thesis. Department of Toxicology, Wageningen University, The Netherlands.

She J., Petreas M., Winkler J., Visita P., McKinney M., Kopec D. (2002). PBDEs in the San Francisco Bay Area: measurements in harbor seal blubber and human breast adipose tissue. *Chemosphere* 46, 697-707.

Sjödin A., Hagmar L., Klasson-Wehler E., Kronholm-Diab K., Jakobsson E., Bergman A. (1999). Polybrominated diphenyl ethers in blood from Swedish workers. *Environmental Health Perspective* 107, 643-648.

Sjödin A., Hagmar L., Klasson-Wehler E., Björt J., (2000). Influence of the consumption of fatty Baltic Sea fish on plasma levels of halogenated environmental contaminants in Latvian and Swedish men. *Environmental Health Perspective* 108, 1035-1041.

Sjödin A., Carlsson H., Thuresson k., Sjolín S., Bergman A., Ostman C. (2001). Flame retardants in indoor air at an electronics recycling plant and at other work environments. *Environmental Science & Technology* 35, 448-454.

Sjödin A., Patterson D.G., Bergman A. (2003). A review on human exposure to brominated flame retardants – particularly polybrominated diphenyl ethers. *Environment International* 29, 829-839.

Sjödin A., Jones R.S., Lapeza C., Wang R.Y., McGahee E.E., Zhang Y., Turner W.E., Patterson D.G. (2004). Retrospective time-trend study of polybrominated diphenyl ether and polybrominated and polychlorinated biphenyl levels in human serum. *Environmental Health Perspective* 112 (6), 654-658.

Soederstroem G., Sellstroem U., de Wit C.A., Tysklind M. (2004). Photolytic debromination of decabromodiphenyl ether (BDE 209). *Environmental Science & Technology* 38, 127-132.

Stapleton H.M., Letcher R.J., Baker J.E. (2004). Debromination of polybrominated diphenyl ether congeners BDE 99 and BDE 183 in the intestinal tract of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Science & Technology* 38, 1054-1061.

Stapleton H.M., Alaei M., Letcher R.J., Baker J.E. (2004). Debromination of the flame retardants Decabromodiphenyl ether by juvenile carp (*Cyprinus carpio*) following dietary exposure. *Environmental Science & Technology* 38, 112-119.

Stapleton H.M., Dodder N.G., Offenberg J.H., Schantz M.M., Wise S.A. (2005). Polybrominated diphenyl in house dust and clothes dryer lint. *Environmental Science & Technology* 39, 925-931.

Staskal D.F., Diliberto J.J., DeVito M.J., Birnbaum L.S. (2004). Tissue distribution and elimination of BDE 47 in mice following a single oral dose. *Organohalogen Compounds* 66, 3929-3933.

Staskal D.F., Diliberto J.J., DeVito M.J., Birnbaum L.S. (2005). Toxicokinetics of BDE 47 in female mice: effect of dose, route of exposure, and time. *Toxicology Science* 83, 215-223.

Staskal D.F., Diliberto J.J., Birnbaum L.S. (2006). Impact of repeated exposure on the toxicokinetics of BDE 47 in mice. *Toxicology Science* 89 (2), 380-385.

Staskal D.F., Diliberto J.J., Birnbaum L.S. (2006). Disposition of BDE 47 in developing mice. *Toxicology Science* 90 (2), 309-316.

Staskal D.F., Hakk H., Bauer D., Diliberto J.J., Birnbaum L.S. (2006). Toxicokinetics of polybrominated diphenyl ether congener 47, 99, 100, and 153 in mice. *Abstract Toxicology Science*.

<http://toxsci.oxfordjournal.org/cgi/content/abstrac/kf1091v1>

Stoker T., Laws S., Crofton K.M., Hedge J.M., Ferrel, J.M., Cooper R.L., (2004). Assessment of DE-71, a commercial polybrominated diphenyl ether (PBDE) mixture, in the EDPS male and female pubertal protocols. *Toxicology Science* 78, 144-155.

Strandberg B., Dodder N.G., Basu I., Hites R.A. (2001). Concentrations and spatial variations of polybrominated diphenyl ethers and other organohalogen compounds in Great Lakes air. *Environmental Science & Technology* 35, 1078-1083.

Tittlemier S.A., Halldorson T., Stern G.A., Tomy G.T. (2002). Vapor Pressures, aqueous solubilities, and Henry's law constants of some brominated flame retardants. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21, 1804-1810.

Thomsen C., Lundanes E., Becher G. (2001). Brominated flame retardants in plasma samples from three different occupational groups in Norway. *Journal of Environmental Monitoring* 3, 366-370.

Thomsen C., Lundanes E., Becher G. (2002). Brominated flame retardants in archived serum samples from Norway: A study on temporal trends and the role of age. *Environmental Science Technology* 36, 1414-1418.

Thuresson K. (2004). Occupational exposure to brominated flame retardants with emphasis on polybrominated diphenyl ethers. PhD Thesis, Department of Environmental Chemistry, Stockholm University.

Thuresson K., Bergman A., Jakobsson K. (2005). Occupational exposure to commercial decabromodiphenyl ether in workers manufacturing or handling flame retarded rubber. *Environmental Science Technology* 39, 1980-1986.

Thuresson K., Hoglund P., Hagmar L., Sjodin A., Bergman A., Jakobsson K. (2006). Apparent half-lives of hepta- to decabrominated diphenyl ethers in humans as determined in occupationally exposed workers. *Environmental Health Perspective* 114, 176-181.

Troitzsch J. H. (1998). An overview of flame retardants. *Chemistry Today* 16.

Viberg H., Fredriksson A., Eriksson P. (2004). Neonatal developmental neurotoxicity of brominated flame retardants, the polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). PhD Thesis, Department of Evolutionary Biology, Uppsala University.

Viberg H., Fredriksson A., Eriksson P. (2004). Neonatal exposure to the brominated flame-retardants, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether, decreases cholinergic nicotinic receptors in hippocampus and effects spontaneous behaviour in the adult mouse. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 17, 61-65.

Viberg H., Fredriksson A., Eriksson P. (2003). Neonatal exposure to polybrominated diphenyl ether (PBDE 153) disrupts spontaneous behaviour, impairs learning and memory, and decreases hippocampal cholinergic receptors in adult mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 192, 95-106.

Viberg H., Fredriksson A., Jakobsson E., Orn U., Eriksson P. (2003). Neurobehavioral derangements in adult mice receiving decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) during a defined period of neonatal brain development. *Toxicology Science* 76, 112-120.

Viberg H., Fredriksson A., Eriksson P. (2002). Neonatal exposure to the brominated flame retardant 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether causes altered susceptibility in the cholinergic transmitter system in adult mouse. *Toxicology Science* 67, 104-107.

WHO (1997). Environmental Health Criteria 192. Flame retardants: A general introduction, International Program on Chemical Safety, World Health Organization.

Weber R., Kuch B. (2003). Relevance of BFRs and thermal conditions on the formation pathways of brominated and brominated-chlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans. *Environment International* 29, 699-710.

Wilford B.H., Harner T., Zhu J., Shoeib M., Jones K.C. (2004). Passive sampling survey of polybrominated diphenyl ethers flame retardants in indoor and outdoor air in Ottawa, Canada: implications for sources and exposure. *Environmental Science Technology* 38, 5312-5318.

Weiss J. (2006). Human exposure to persistent organic pollutants. PhD Thesis. Department of Environmental Chemistry, Stockholm University, Sweden.

WWF (2004). Contamination: the next generation. Results of the family chemical contamination survey. A World Wildlife Found-UK Chemicals and Health campaign report in conjunction with The Cooperative Bank.

Zhou T., Ross D.G., DeVito M.J., Crofton K.M. (2001). Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. *Toxicology Science* 61 (1), 76-82.

Zhou T., Taylor M.M., DeVito M.J., Crofton K.M. (2002). Developmental exposure to brominated diphenyl ethers results in thyroid hormone disruption. *Toxicology Science* 66, 105-116.

Zoeller T.R., Dowling A.L., Herzing C.T., Lannacone E.A., Gauger K.J., Bansal R. (2002). Thyroid hormone, brain development, and the environment. *Environmental Health Perspective* 110, 355-361.

ANEXO I

1. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

La cuantificación de los diferentes analitos se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent, modelo 6850 Network System equipado con un automuestreador modelo 6850, acoplado a un espectrómetro de masas Agilent, modelo 5973 Network. Se empleó una columna capilar DB-5HT marca J & W Scientific, de polaridad baja, con una longitud de 15 m, 0.25 mm de diámetro interno y 0.1 µm de espesor de película de fase estacionaria, utilizando Helio como gas acarreador. La temperatura del inyector fue de 250°C en el modo split-less manteniendo la válvula cerrada por un tiempo de 1.5 minutos. La temperatura de trabajo del detector fue de 320°C. Para la determinación de los polibromados difenil éter (PBDEs) se trabajó con el siguiente programa de temperatura del horno: 80°C (1 minuto), 10°C/minuto hasta llegar a 270°C, 30°C/minuto hasta llegar a 300°C (5 minutos). El espectrómetro de masas utilizado se operó en el modo de ionización electrónica (EI), la temperatura de la fuente fue de 250°C. El volumen de inyección de la muestra fue de 4 µL.

2. IDENTIFICACIÓN DEL IÓN MOLECULAR Y PICO BASE

Se inyectaron en el modo SCAN disoluciones individuales en hexano de los congéneres BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-209 y BDE-77 (estándar interno) en concentraciones de 1.90, 2.24, 2.21, 1.84, 0.84 y 7.39 mg/L, respectivamente. Se obtuvieron los espectros de masas de cada compuesto y se identificaron el ión molecular y los picos base de cada uno. Para evaluar si el efecto de matriz interfería con el porcentaje de abundancia de cada uno de los picos base seleccionados, se fortificaron tres muestras de 5 g cada una de suero blanco con los PBDEs de interés y se sometieron al proceso de extracción descrito en la sección 2.4.4.1 de la metodología; los extractos obtenidos se inyectaron en los modos SCAN y SIM, se obtuvieron los espectros de masas de cada compuesto y se compararon las abundancias de los iones más abundantes. Como si hubo un efecto de matriz importante, tanto el ión molecular como los picos base fueron seleccionados a partir de los espectros de masa obtenidos en las muestras de suero fortificadas con la

mezcla de los PBDEs. En las Figuras 1 a 3 se muestran los espectros de masas en el modo SIM de los congéneres BDE-47, BDE-100 y BDE-153 en suero, en los que se muestran los iones seleccionados para la identificación de cada uno de los congéneres.

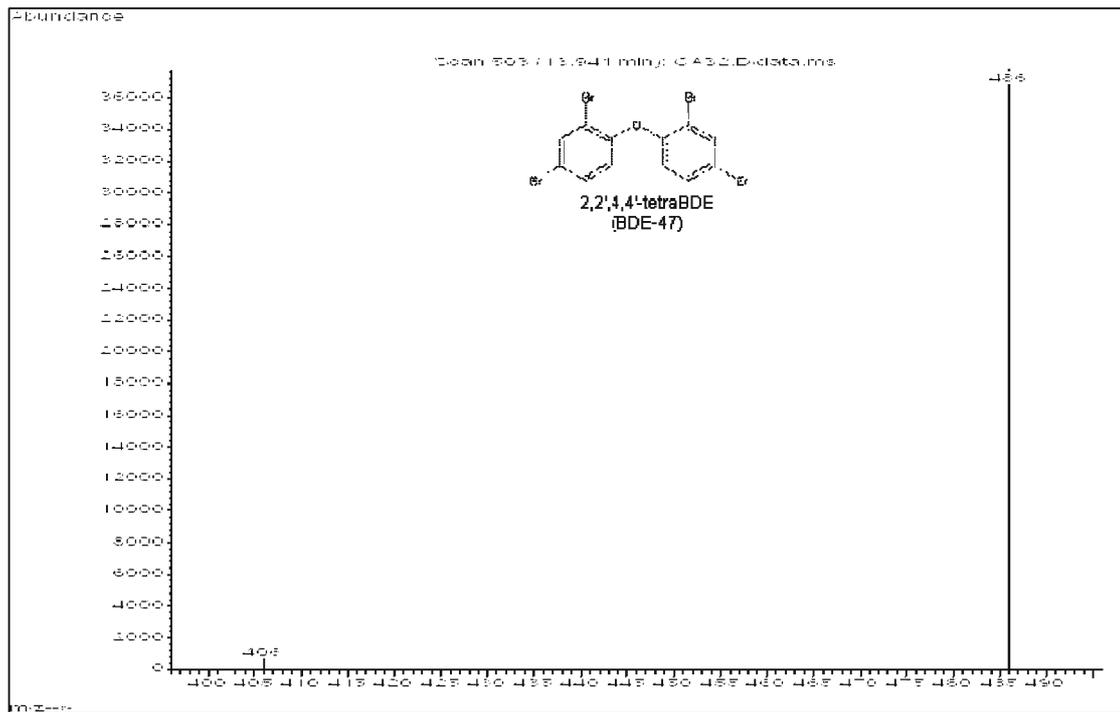


Figura 1. Espectro de masa del BDE-47 en el modo SIM.
Para este congéner y el BDE-77 se monitorearon los iones 486 y 406.

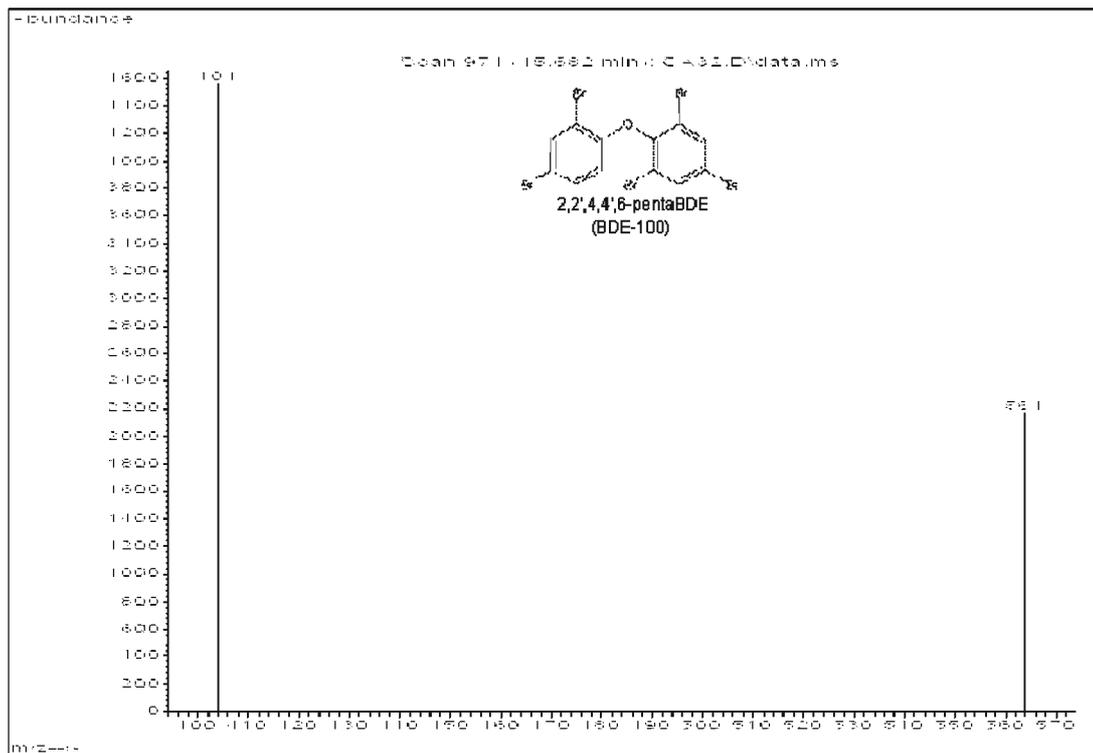


Figura 2. Espectro de masa del BDE-100 en el modo SIM. Para este congéner y el BDE-99 se monitorearon los iones 404 y 564.

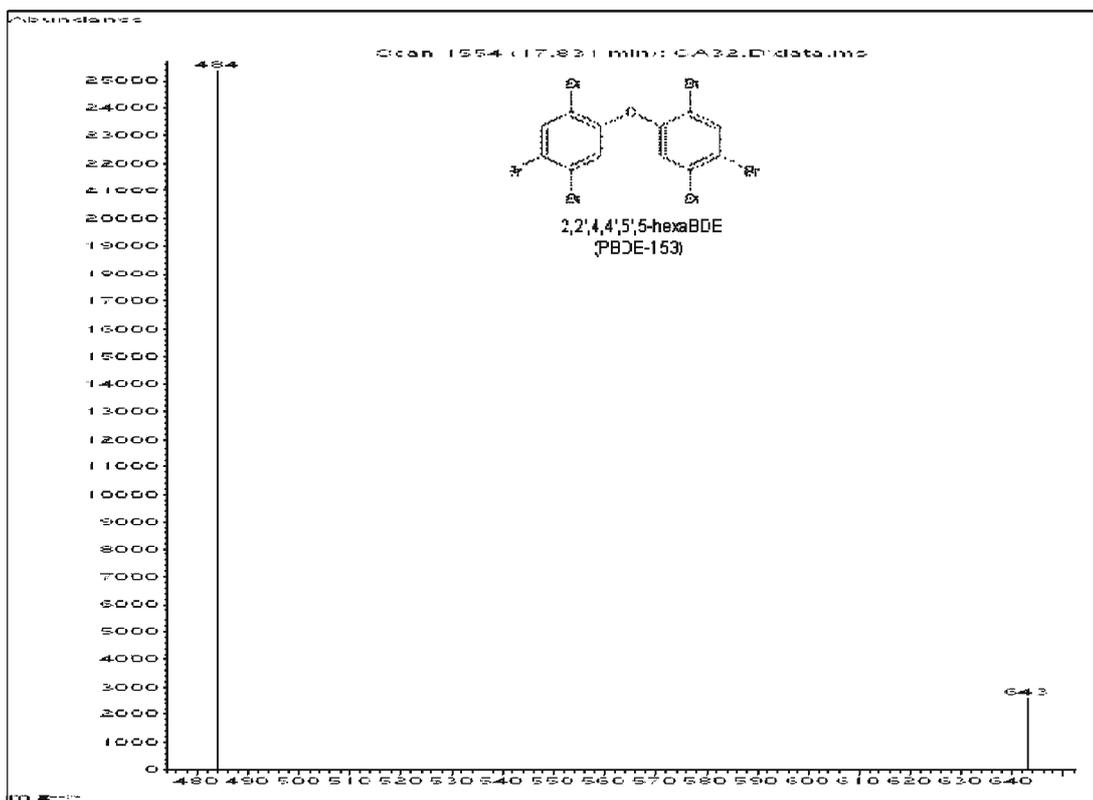


Figura 3. Espectro de masa del BDE-153 en el modo SIM.
Para este congéner y el BDE-154 y BDE-209 se monitorearon los iones 484 y 643.

Los iones seleccionados para la identificación y cuantificación de los congéneres polibromados de interés en las muestras de suero se presentan en la tabla siguiente.

Tabla 1. Iones monitoreados para la identificación de los PBDEs

Congéner	Iones seleccionados (m/z)
BDE-47	486, 406
BDE-77*	486, 406
BDE-100	404, 564
BDE-99	404, 564
BDE-154	484, 643
BDE-153	484, 643
BDE-209	484, 643

*Estándar interno

3. VALIDACIÓN DEL MÉTODO INSTRUMENTAL

Con la finalidad de darle confiabilidad a las concentraciones de los diferentes PBDEs cuantificados en las muestras de suero, primero se realizó la validación del método instrumental. Los parámetros de validación evaluados fueron: selectividad, linealidad, repetibilidad, reproducibilidad y límites de detección y cuantificación. Antes de realizar la validación, se establecieron los criterios de aceptación para cada uno de los parámetros.

El criterio de aceptación para evaluar la linealidad se estableció de acuerdo a la guía EURACHEM (Europa Analytical Chemistry), la cual establece que el coeficiente de correlación (r) debe ser igual o mayor a 0.99 y la ordenada al origen lo más cercana a cero.

El criterio de aceptación para considerar que el método es repetible y reproducible, se determinó utilizando la ecuación de Horwitz:

$$\% \text{ C.V.} = 2^{(1-0.5 \log C)}$$

donde C es la concentración expresada como potencia de 10, (por ejemplo 1 ppm = 10^{-6}), de acuerdo a lo anterior el criterio establecido para determinar si el método es repetible es que el % de C.V. de la respuesta de cada estándar (área bajo la curva) tenga una variación entre el 16 y el 23% y para considerar que es reproducible, el coeficiente de variación de la pendiente debe estar en ese mismo intervalo de variación (Horwitz, 1982). También se consideraron los criterios de aceptación establecidos por la AOAC Peer Verified Methods Policies and Procedures, los cuales se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Criterios de aceptación para la evaluación de los parámetros de validación: repetibilidad, reproducibilidad y exactitud

Concentración	Repetibilidad (% C.V.)	Reproducibilidad (% C.V.)	Exactitud (%)
≤ 1 ppb	36	54	50-120
> 1 ppb ≤ 10 ppb	32	46	60-120
> 10 ppb ≤ 100 ppb	22	34	70-120
> 100 ppb ≤ 1 ppm	18	25	70-110
> 1 ppm	14	19	70-110

Fuente: AOAC International (1993). AOAC Peer Verified Methods Policies and Procedures - Guidelines for Single-laboratory Validation of Analytical Methods for Trace-level Concentrations of Organic Chemicals

3.1 Selectividad

La selectividad se refiere a la capacidad de un método analítico para identificar a un analito en particular cuando éste se encuentra en una mezcla. Cuando un método es selectivo para un analito o un grupo de analitos se dice que es específico (Eurachem Guide, 1998).

A partir de disoluciones madres de los congéneres individuales, se prepararon las mezclas conteniendo a los congéneres BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154 y BDE-209 en hexano, en tres diferentes concentraciones (25, 50 y 100 ng/mL). Como estándar interno se empleó al congéner BDE-77 en una concentración de 50 ng/mL.

Primero se inyectaron los estándares en hexano de cada uno de los congéneres polibromados de manera individual, se obtuvo su espectro de masas y se registró su tiempo de retención (tr), posteriormente se inyectó la mezcla de los PBDEs y se evaluó la capacidad del detector de masas para identificar a cada uno de los congéneres contenidos en la mezcla. En la siguiente tabla se reportan los tiempos de retención de cada compuesto.

Tabla 3. Tiempos de retención de los PBDEs y del estándar interno empleado

Congéner	Tiempo de retención (min)
BDE-47	13.838
*BDE-77	14.561
BDE-100	15.299
BDE-99	15.733
BDE-154	16.889
BDE-153	17.466
BDE-209	18.173

El tiempo de retención es el promedio de 5 repeticiones. *Estándar interno
Las condiciones cromatográficas se detallan en el apartado 1 de este anexo.

Monitoreando los iones seleccionados y empleando los tiempos de retención de cada compuesto polibromado, fue posible identificar cada uno de los 7 congéneres (BDEs 47, 77, 99, 100, 153, 154 y 209) contenidos en una mezcla. En la Figura 4 se muestra un cromatograma de una mezcla de polibromados difenil éter en hexano.

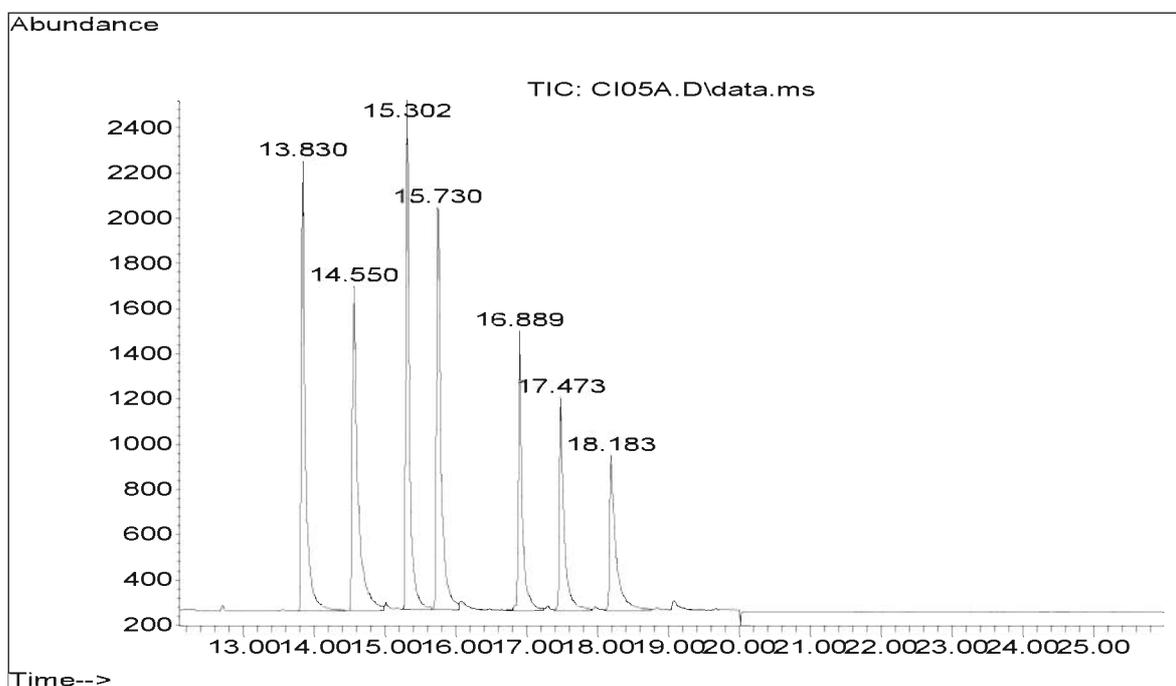


Figura 4: Cromatograma de una mezcla de polibromados difenil éter en hexano. Los tiempos de retención de los PBDEs fueron: BDE-47 (13.830 min) *BDE-77 (14.550 min) BDE-100 (15.302 min) BDE-99 (15.730 min) BDE-154 (16.889 min) BDE-153 (17.473 min) BDE-209 (18.183 min). *Estándar interno. La concentración de la mezcla fue de 0.5 ng/mL.

3.2 Linealidad

Se considera que un método es lineal cuando en un intervalo de concentración determinado la respuesta o área bajo la curva es directamente proporcional a la concentración del analito. Para determinar la linealidad se realizaron por triplicado curvas de calibración en hexano de la mezcla de PBDEs en dos intervalos de concentración, de 0.1 a 3.2 ng/mL con el BDE-77 como estándar interno (0.5 ng/mL), y de 0.5 a 16 ng/mL, con una concentración de 5 ng/mL del BDE-77 como estándar interno. Las condiciones cromatográficas están descritas al inicio de este anexo. Los coeficientes de correlación (r), pendientes (m) y ordenadas al origen (b) obtenidas se presentan en las Tablas 4 y 5. Las curvas de calibración correspondientes se presentan en las Figuras 5 y 6,

Tabla 4. Linealidad del método instrumental para PBDEs
(Intervalo de concentración bajo)

Congéner	Curva	r	m	b
BDE-47	1	1.000	1.13	-0.03
	2	1.000	1.18	-0.07
	3	0.999	1.15	-0.10
	Media	0.999	1.15	-0.70
BDE-100	1	1.000	0.82	-0.04
	2	0.999	0.86	-0.10
	3	0.999	0.82	-0.09
	Media	0.999	0.83	-0.08
BDE-99	1	1.000	0.93	-0.09
	2	0.999	0.92	-0.11
	3	0.999	0.90	-0.14
	Media	0.999	0.92	-0.11
BDE-154	1	1.000	0.64	-0.05
	2	0.999	0.65	-0.07
	3	0.999	0.64	-0.08
	Media	0.999	0.64	-0.07
BDE-153	1	1.000	0.62	-0.05
	2	0.999	0.60	-0.08
	3	0.999	0.60	-0.09
	Media	0.999	0.61	-0.07
BDE-209	1	1.000	0.58	-0.08
	2	0.999	0.52	-0.07
	3	0.999	0.53	-0.08
	Media	0.999	0.54	-0.08

Coefficiente de correlación (r), pendiente (m) y ordenada al origen (b). Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de PBDEs en hexano, las concentraciones fueron: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/mL, empleando el BDE-77 como estándar interno (0.5 ng/mL). Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

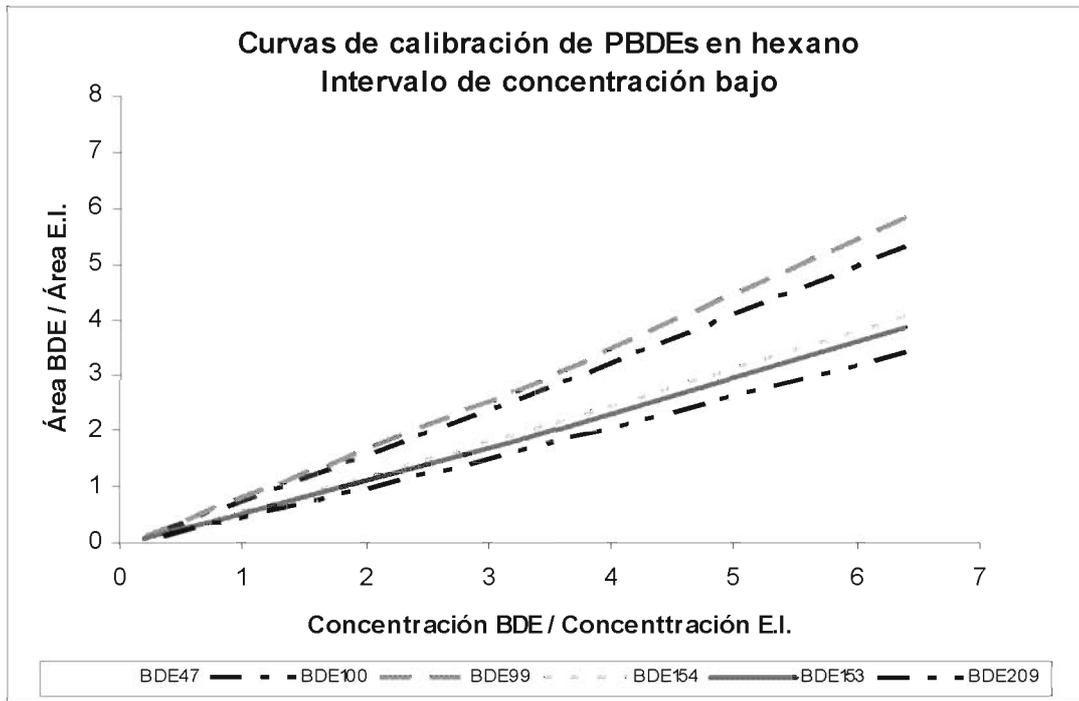


Figura 5. Curvas de calibración de los PBDEs en hexano. Concentraciones empleadas: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/mL, estándar interno BDE-77 (0.5 ng/mL). n = 3. Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

Tabla 5. Linealidad del método instrumental para PBDEs
(Intervalo de concentración alto)

Congéner	Curva	r	m	b
BDE-47	1	0.999	1.04	-0.04
	2	0.999	1.08	-0.07
	3	0.999	1.14	-0.09
	Media	0.999	1.08	-0.06
BDE-100	1	0.999	0.72	-0.03
	2	0.999	0.74	-0.05
	3	0.999	0.81	-0.11
	Media	0.999	0.76	-0.07
BDE-99	1	0.998	0.81	-0.04
	2	0.998	0.87	-0.09
	3	0.999	0.84	-0.06
	Media	0.998	0.84	-0.07
BDE-154	1	0.999	0.56	-0.03
	2	0.999	0.57	-0.05
	3	0.999	0.59	-0.05
	Media	0.999	0.57	-0.04
BDE-153	1	0.998	0.54	-0.05
	2	0.998	0.54	-0.06
	3	0.998	0.58	-0.06
	Media	0.998	0.56	-0.06
BDE-209	1	0.999	0.51	-0.03
	2	0.999	0.52	-0.04
	3	0.998	0.57	-0.05
	Media	0.999	0.54	-0.04

Coefficiente de correlación (r), pendiente (m) y ordenada al origen (b). Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de PBDEs en hexano, las concentraciones fueron: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ng/mL, empleando el BDE-77 como estándar interno (5 ng/mL). Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

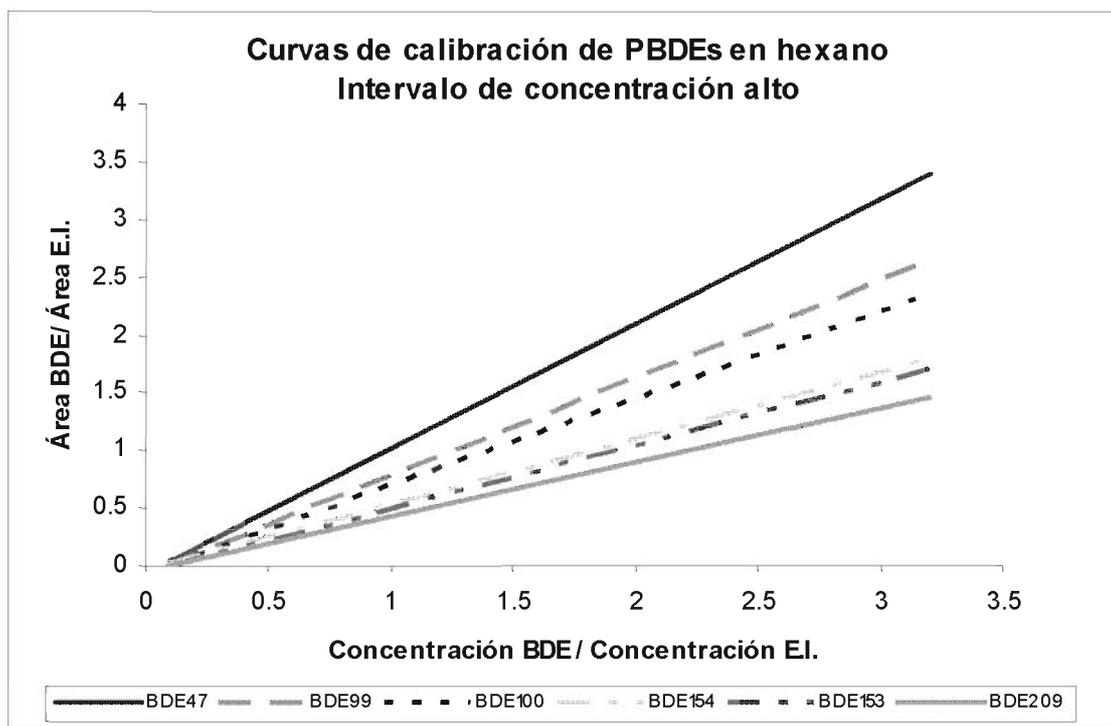


Figura 6. Curvas de calibración de los PBDEs en hexano. Concentraciones empleadas: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ng/mL, estándar interno BDE-77 (5 ng/mL). $n = 3$. Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

Las curvas de calibración de todos los congéneres fueron lineales ya que los coeficientes de correlación fueron iguales o mayores a 0.99, para ambos intervalos de concentración. La ordenada al origen fue de -0.14 a -0.03 para el intervalo de concentración bajo y de -0.11 a -0.03 para el intervalo alto. La pendiente de los BDEs 47, 99, 100, 153, 154 y 209 fueron: 1.15, 0.92, 0.83, 0.61, 0.64 y 0.54, respectivamente para el intervalo de concentración bajo; y de 1.08, 0.84, 0.76, 0.55, 0.57 y 0.47, respectivamente para el intervalo alto.

3.3 Precisión

Es el grado de concordancia entre un número de mediciones independientes obtenidas bajo las mismas condiciones analíticas. La precisión se puede evaluar en tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad (CDR, 1994, ICH, 1995).

3.3.1 Repetibilidad

La repetibilidad se determinó mediante la determinación del área bajo la curva (respuesta) obtenida después de inyectar por triplicado los estándares de concentración: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/mL (intervalo de concentración bajo); y 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ng/mL (intervalo de concentración alto) de la mezcla de PBDEs en hexano. En las Tablas 6 y 7 se indican los coeficientes de variación (%C.V.) de la relación del área bajo la curva de cada uno de los PBDEs dividido entre el área bajo la curva del estándar interno para ambos intervalos de concentración.

Tabla 6. Repetibilidad del método instrumental para los PBDEs (Intervalo de concentración bajo)

Concentración (ng/mL)	% CV					
	BDE-47	BDE-100	BDE-99	BDE-154	BDE-153	BDE-209
0.1	3.8	6.5	10.2	8.5	9.1	14.8
0.2	4.6	7.0	9.3	5.0	3.9	2.8
0.4	2.8	2.2	3.0	2.3	4.9	3.1
0.8	3.1	3.0	5.5	3.3	7.2	7.7
1.6	3.5	3.5	5.9	3.3	6.7	8.8
3.2	2.2	2.3	1.1	1.7	1.8	4.9

Los valores reportados son el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) de la respuesta (Área bajo la curva del BDE/Área bajo la curva del estándar interno) de tres réplicas. Concentraciones empleadas: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/mL, estándar interno BDE-77 (0.5 ng/mL). Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

Tabla 7. Repetibilidad del método instrumental para los PBDEs (Intervalo de concentración alto)

Concentración (ng/mL)	% CV					
	BDE-47	BDE-100	BDE-99	BDE-154	BDE-153	BDE-209
0.5	4.4	25.1	20.6	7.4	3.8	16.1
1	11.0	3.7	11.6	4.7	14.8	16.5
4	2.6	2.5	5.2	5.6	1.5	7.9
8	3.6	3.4	2.0	2.0	1.9	3.7
12	4.7	4.5	1.6	2.8	2.6	3.2
16	3.8	5.2	2.4	1.6	1.7	2.2

Los valores reportados son el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) de la respuesta (Área bajo la curva del BDE/Área bajo la curva del estándar interno) de tres réplicas. Concentraciones empleadas: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ng/mL, estándar interno BDE-77 (5 ng/mL). Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

De acuerdo a los porcentajes del coeficiente de variación obtenidos, se concluye que el método instrumental fue repetible ya que los valores obtenidos del CV están

dentro del intervalo de aceptación que es del 16 al 23% (Horwitz, 1982) la concentración de 0.5 ng/mL del BDE-100 con la cual se obtuvo un CV de 25.1%, no cumple con los lineamientos de Horwitz pero si los criterios establecidos por la AOAC Peer Verified Methods Policies and Procedures (1993) (concentraciones menores a 1 ppb el CV aceptado es de hasta un 36%).

3.3.2 Reproducibilidad

La reproducibilidad del método, se determinó en función del porcentaje del coeficiente de variación de la pendiente obtenida de tres curvas de calibración independientes, en los intervalos de concentración de 0.1 a 3.2 ng/mL y de 0.5 a 16 ng/mL. Los coeficientes de variación obtenidos se presentan en las Tablas 8 y 9.

Tabla 8. Reproducibilidad del método instrumental para los PBDEs (Intervalo de concentración bajo)

Congéner	Pendiente				% CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Media	
BDE-47	1.13	1.18	1.15	1.15	2.4
BDE-100	0.82	0.86	0.82	0.83	2.4
BDE-99	0.93	0.92	0.90	0.92	1.3
BDE-154	0.64	0.65	0.64	0.64	1.3
BDE-153	0.62	0.60	0.60	0.61	2.2
BDE-209	0.58	0.52	0.53	0.54	5.7

% CV = Porcentaje del coeficiente de variación. Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de PBDEs en hexano, las concentraciones fueron: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/mL, empleando el BDE-77 como estándar interno (0.5 ng/mL). Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

Tabla 9.- Reproducibilidad del método instrumental para los PBDEs (Intervalo de concentración alto)

Congéner	Pendiente				% CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Media	
BDE-47	1.04	1.08	1.14	1.08	4.7
BDE-100	0.72	0.74	0.81	0.76	6.5
BDE-99	0.81	0.87	0.84	0.84	3.1
BDE-154	0.56	0.57	0.59	0.57	2.4
BDE-153	0.54	0.55	0.56	0.55	1.9
BDE-209	0.47	0.46	0.49	0.47	3.0

% CV = Porcentaje del coeficiente de variación. Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de PBDEs en hexano, las concentraciones fueron: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ng/mL, empleando el BDE-77 como estándar interno (5 ng/mL). Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

De acuerdo a los resultados obtenidos para cada uno de los analitos, se concluye que el método instrumental fue reproducible ya que el porcentaje del coeficiente de variación de la pendiente estuvo dentro del intervalo de aceptación del 16 al 23% (Horwitz, 1982).

3.4 Prueba de verificación

Cuando no se cuenta con estándares certificados (como en este caso), una opción es preparar a simple ciego estándares en hexano en concentración diferente a la empleada para construir las curvas de calibración (concentración teórica). Estos estándares se analizan bajo las mismas condiciones cromatográficas previamente descritas y se estima su concentración (concentración experimental) empleando la curva de calibración construida para determinar la linealidad del método instrumental. Las concentraciones empleadas fueron para la curva de calibración de intervalo de concentración bajo: 0.3 y 0.5 ng/mL (control bajo), 1.2 ng/mL (control medio) y 2.5 ng/mL (control alto). Para la curva de calibración de intervalo de concentración alto: 3 y 5 ng/mL (control bajo), 10 ng/mL (control medio) y 15 ng/mL (control alto). La diferencia entre la concentración teórica y la concentración experimental, conocido como porcentaje de error, no debe ser mayor al 23% para que la prueba de verificación sea aceptada. Las concentraciones empleadas estuvieron abajo del 23% de error. El valor experimental obtenido y el porcentaje de error del mismo se resumen en las Tablas 10 y 11.

Tabla 10. Prueba de verificación del método instrumental para los PBDEs (Intervalo de concentración bajo)

Congéner	0.3 ng/mL*		0.5 ng/mL *		1.2 ng/mL *		2.5 ng/mL *	
	Media	% Error	Media	% Error	Media	% Error	Media	% Error
BDE-47	0.29	1.0	0.48	4.0	1.09	9.2	2.43	2.8
BDE-100	0.29	2.3	0.49	1.4	1.09	9.2	2.48	0.92
BDE-99	0.29	2.3	0.48	4.0	1.10	8.3	2.46	1.5
BDE-154	0.29	3.3	0.48	4.0	1.10	8.3	2.51	-0.28
BDE-153	0.28	5.7	0.46	7.4	1.09	9.2	2.49	0.28
BDE-209	0.29	3.3	0.46	7.4	1.09	9.2	2.50	0

% Error = porcentaje de error. Los valores reportados son el promedio de tres réplicas. * Concentración teórica. Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

Tabla 11. Prueba de verificación del método instrumental para los PBDEs (Intervalo de concentración alto)

Congéner	3 ng/mL *		5 ng/mL *		10 ng/mL *		15 ng/mL *	
	Media	% Error	Media	% Error	Media	% Error	Media	% Error
BDE-47	3.1	-2.7	4.9	2.2	10.3	-3.0	16.4	-9.0
BDE-100	3.1	-3.3	5.0	-0.60	10.2	-2.0	16.3	-8.5
BDE-99	3.0	0.67	4.8	3.4	10.1	-1.2	16.7	-11.1
BDE-154	3.0	1.0	4.8	5.0	10.1	-0.80	16.3	-8.9
BDE-153	3.0	1.3	4.7	6.2	10.1	-0.50	16.5	-9.7
BDE-209	2.7	10.7	4.5	10.4	9.8	2.3	16.3	-8.7

% Error = porcentaje de error. Los valores reportados son el promedio de tres réplicas. * Concentración teórica. Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

3.5 Límites de detección y de cuantificación

El límite de detección es la mínima concentración (o cantidad) de un analito que puede ser detectada por el instrumento, pero no necesariamente cuantificada; y el límite de cuantificación es la menor concentración de un analito que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables (Eurachem Guide, 1998). Para calcular estos parámetros se realizaron tres curvas independientes de calibración de la mezcla de PBDEs en hexano. Las concentraciones empleadas fueron: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/mL, utilizando el BDE-77 como estándar interno (0.5 ng/mL). El cálculo para estimar los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC) se realizó de acuerdo al método descrito por Miller y Miller, (2004). Los valores promedios obtenidos se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Límites de detección y cuantificación del método instrumental

Congéner	LD ¹ (ng/mL)	LC ² (ng/mL)
BDE-47	0.018	0.060
BDE-100	0.030	0.102
BDE-99	0.028	0.094
BDE-154	0.026	0.089
BDE-153	0.025	0.085
BDE-209	0.031	0.104

¹ LD = límite de detección. ² LC = límite de cuantificación. Los LD y LC se calcularon de acuerdo al método de Miller y Miller (2004) y los valores reportados son el promedio de 3 curvas independientes de calibración, las concentraciones empleadas fueron: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/mL, y 0.5 ng/mL del BDE-77 como estándar interno. Las condiciones cromatográficas se detallan en la sección 1 de este anexo.

4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Cuando se analizan compuestos químicos en muestras biológicas es común tener interferencias en la cuantificación del analito de interés, debido a la presencia de los diferentes componentes de la matriz. Para contrarrestar este efecto de matriz, se emplean diferentes estrategias metodológicas como es el empleo de columnas de sílica gel y/o la construcción de curvas de calibración en dichas matrices.

Para validar el método analítico (de extracción), se colectaron muestras de suero de voluntarios clínicamente sanos y no expuestos a PBDEs, hasta conformar un volumen total de 600 mL., el cual fue dividido en alícuotas y congelado a -20°C hasta el momento de su uso, a este suero se le nombrará “suero blanco”. Se prepararon disoluciones patrón de la mezcla de PBDEs en hexano en diferentes concentraciones (50, 100, 500 y 1000 ng/mL) y disoluciones de 50 y 500 ng/mL del congener BDE-77 como estándar interno, a partir de las cuales se prepararon las diferentes concentraciones en suero. Para la validación del método se determinaron los siguientes parámetros: linealidad, repetibilidad, reproducibilidad, porcentaje de recobro y límites de detección y de cuantificación. Los criterios de aceptación utilizados para la validación del método analítico son los mismos que se establecieron para el método instrumental y se describen en el apartado 3 de este anexo. En la Figura 7 se muestra un cromatograma típico de la mezcla de PBDEs en un suero blanco fortificado.

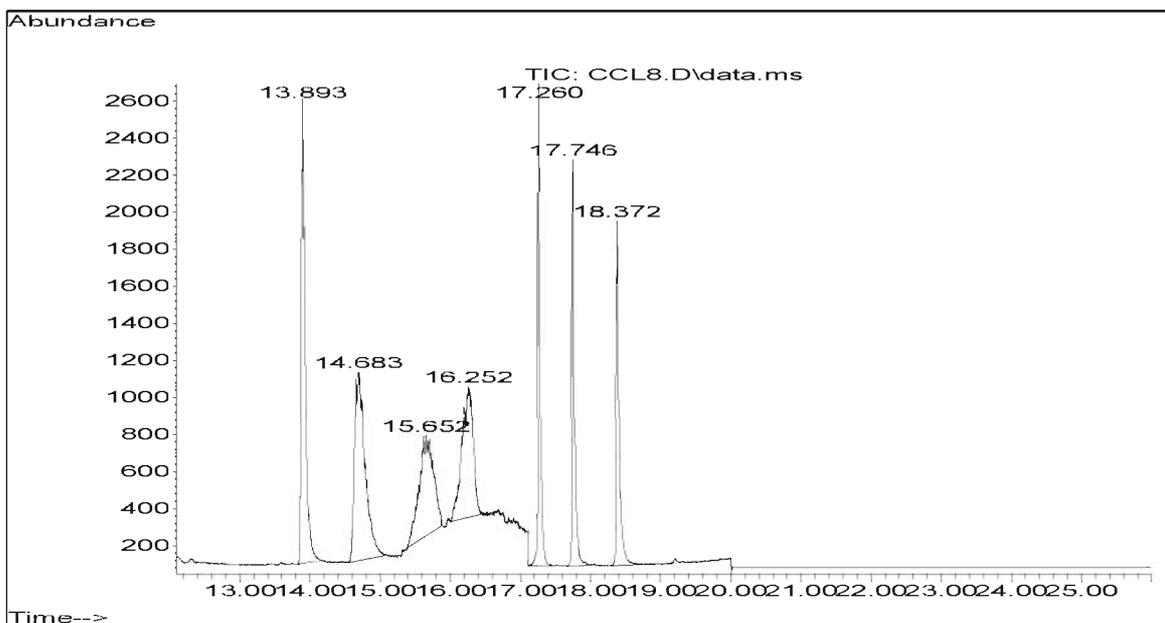


Figura 7: Cromatograma de una mezcla de polibromados difenil éter en suero blanco fortificado. Los tiempos de retención de los PBDEs fueron: BDE-47 (13.893 min), BDE-77 (14.683 min), BDE-100 (15.652 min), BDE-99 (16.252 min), BDE-154 (17.260 min), BDE-153 (17.746 min) y BDE-209 (18.372 min). *Estándar interno. La concentración de la mezcla fue de 0.5 ng/g.

4.1 Efecto de matriz

Para determinar el efecto de matriz se prepararon por triplicado curvas de calibración de PBDEs en suero en los intervalos de concentración de 0.1 a 3.2 ng/g (intervalo bajo) con un estándar interno de 0.5 ng/g; y de 0.5 a 16 ng/g (intervalo alto) con un estándar interno de 5 ng/g. Veinticuatro horas previas al análisis, se pesaron alícuotas de 5 g de suero blanco en tubos de ensayo y se fortificaron con las diferentes concentraciones indicadas anteriormente, se agitaron en vortex por un minuto, se mezclaron por inversión durante 10 minutos y se guardaron en refrigeración protegidas de la luz. Las muestras fortificadas se analizaron bajo el mismo esquema que se describe en el punto 2.4.4 de la metodología.

En las Figuras de la 8 a la 19 se muestra que el efecto de matriz fue diferente para cada uno de los congéneres polibromados. Se comprobó que los diferentes componentes de las matrices tuvieron interferencias en menor o mayor proporción en

el proceso de cuantificación de los PBDEs. Por ejemplo para los congéneres BDEs 47, 99 y 100 el efecto fue mayor que para los BDEs 153, 154 y 209, inclusive este efecto de matriz no se observa en el intervalo de concentración alto para el BDE-153 y muy ligeramente para el BDE-154. No obstante, la concentración de cada uno de los analitos presentes en las muestras problema fue calculada interpolando en la curva de calibración en suero de cada compuesto bromado.

Los valores de cada uno de los PBDEs obtenidos, en las primeras 111 muestras de suero recolectadas, fueron interpolados en las curvas de calibración en suero en el intervalo de concentración de 0.5 a 16 ng/g. Debido a que las concentraciones obtenidas en estas muestras, fueron más bajas de lo esperado, el intervalo de concentración de la curva de calibración quedó muy amplio, por lo cual se construyó una curva de calibración nueva para cada uno de los analitos en un intervalo de concentración más pequeño (de 0.1 a 3.2 ng/g), también se disminuyó la concentración del estándar interno (BDE-77) de 5 ng/g a 0.5 ng/g. Los valores de cada compuesto polibromado, en las últimas muestras recolectadas (71 muestras) fueron interpoladas en esta curva.

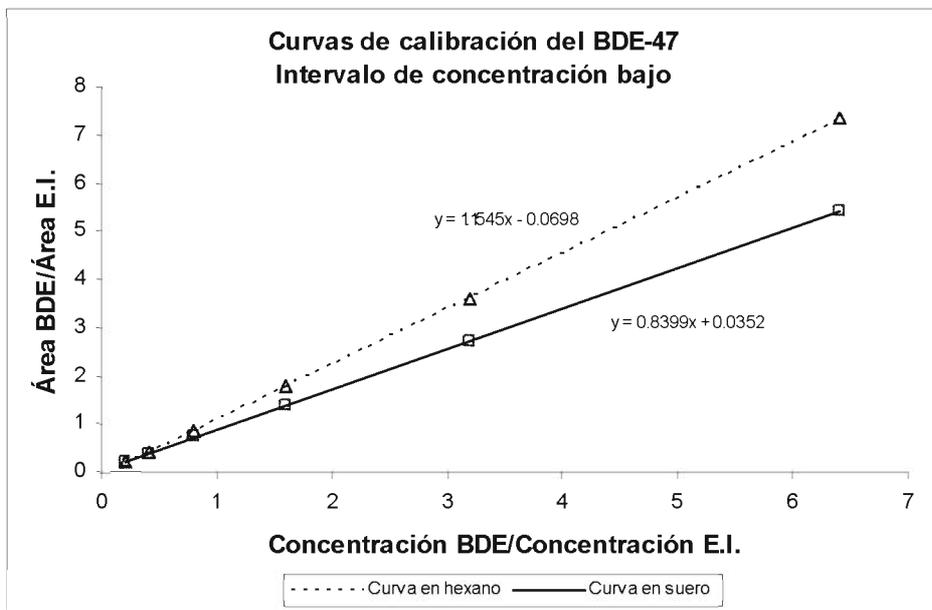


Figura 8. Efecto de matriz para el BDE-47. Concentraciones: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ppb, estándar interno BDE-77 (0.5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

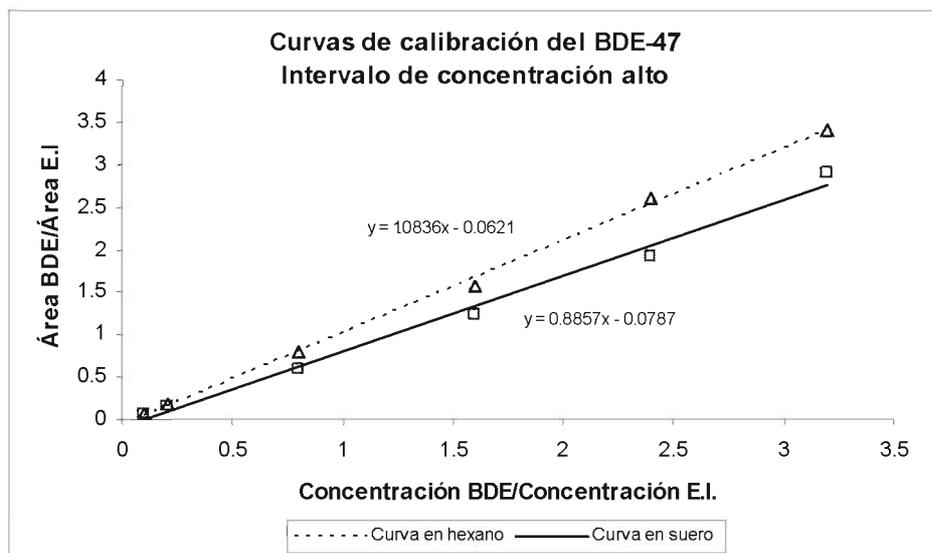


Figura 9. Efecto de matriz para el BDE-47. Concentraciones: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ppb, estándar interno BDE-77 (5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

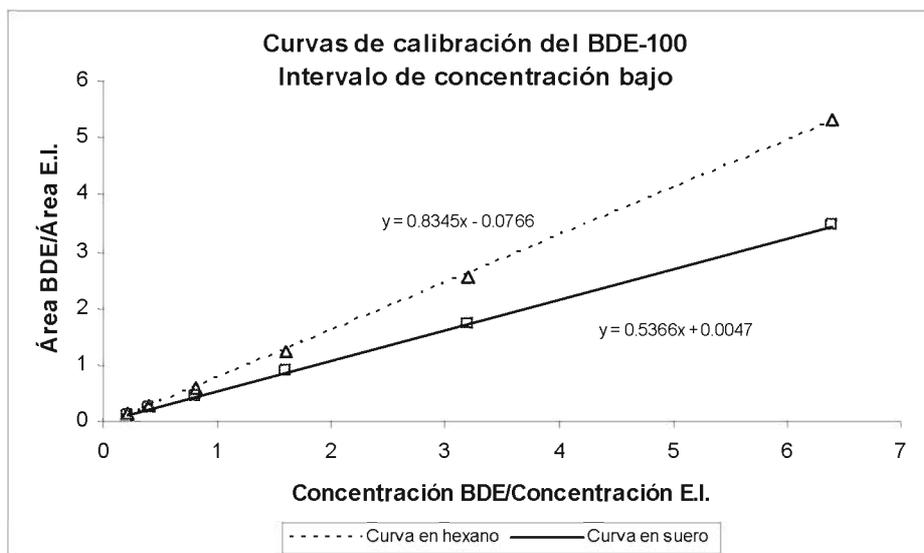


Figura 10. Efecto de matriz para el BDE-100. Concentraciones: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ppb, estándar interno BDE-77 (0.5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

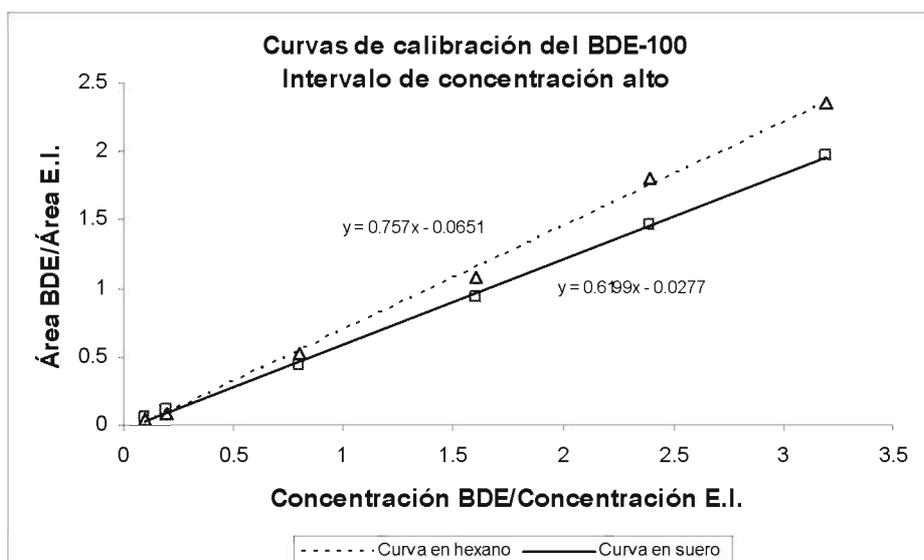


Figura 11. Efecto de matriz para el BDE-100. Concentraciones: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ppb, estándar interno BDE-77 (5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

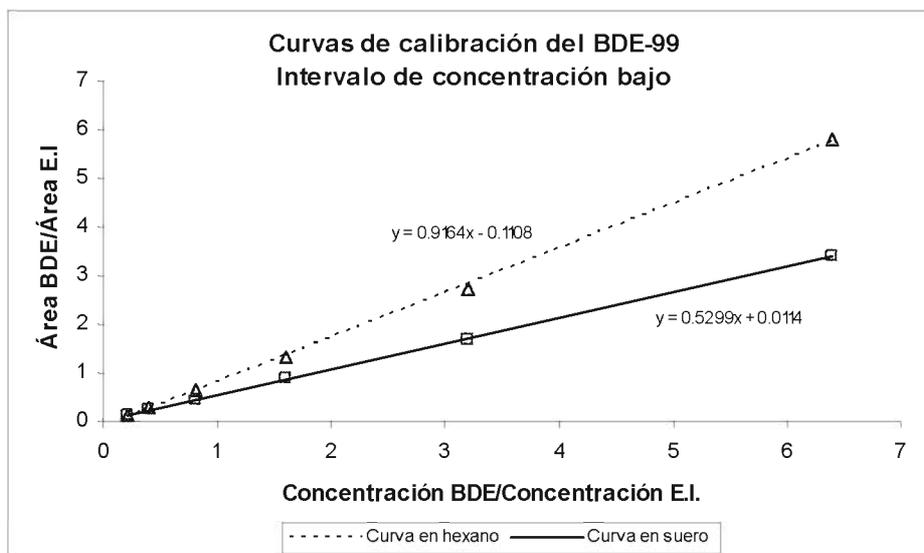


Figura 12. Efecto de matriz para el BDE-99. Concentraciones: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ppb, estándar interno BDE-77 (0.5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

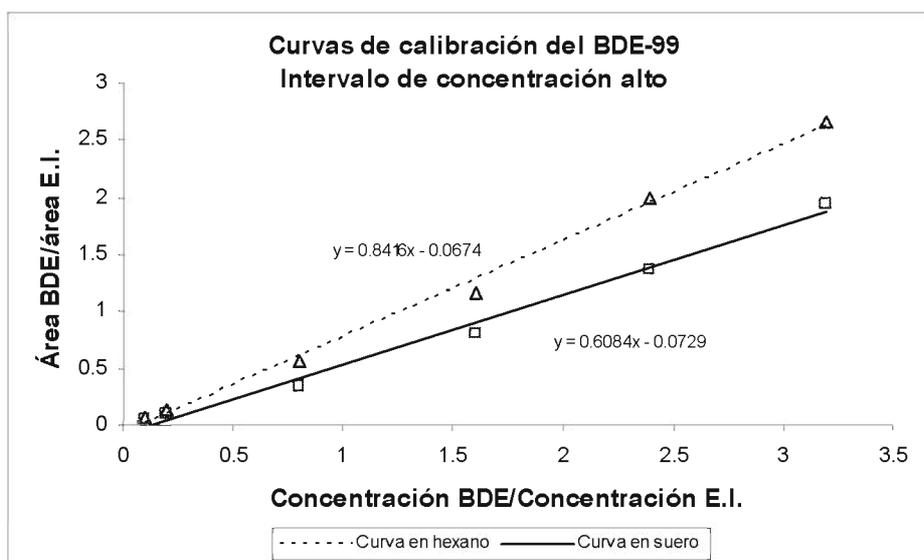


Figura 13. Efecto de matriz para el BDE-99. Concentraciones: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ppb, estándar interno BDE-77 (5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

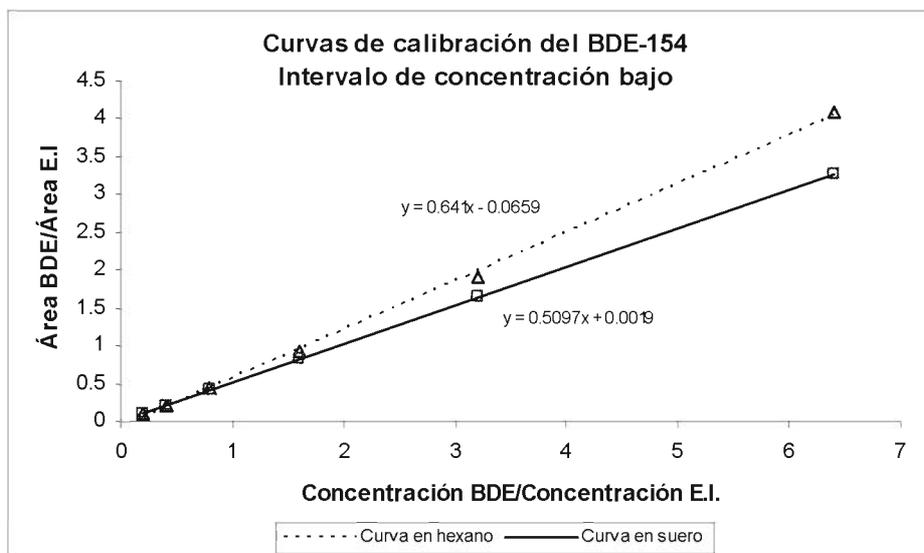


Figura 14. Efecto de matriz para el BDE-154. Concentraciones: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ppb, estándar interno BDE-77 (0.5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

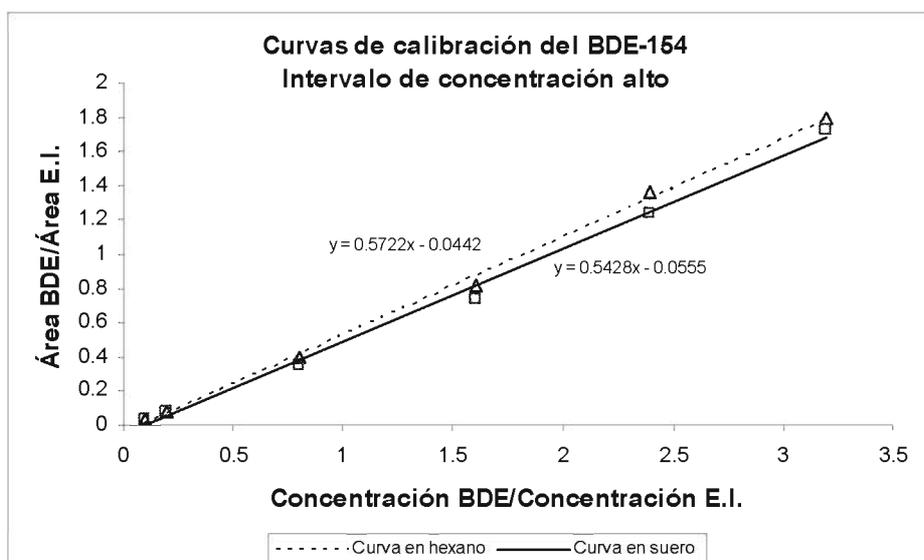


Figura 15. Efecto de matriz para el BDE-154. Concentraciones: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ppb, estándar interno BDE-77 (5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

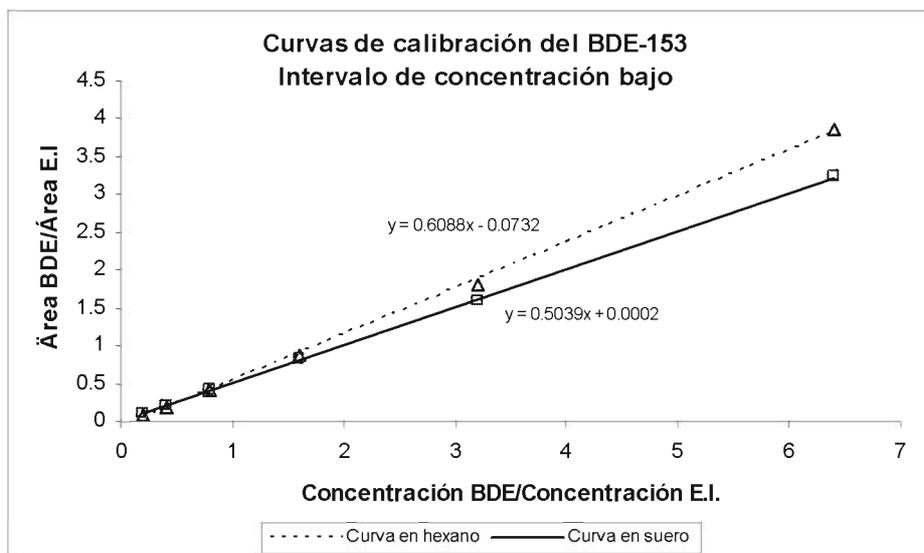


Figura 16. Efecto de matriz para el BDE-153. Concentraciones: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ppb, estándar interno BDE-77 (0.5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

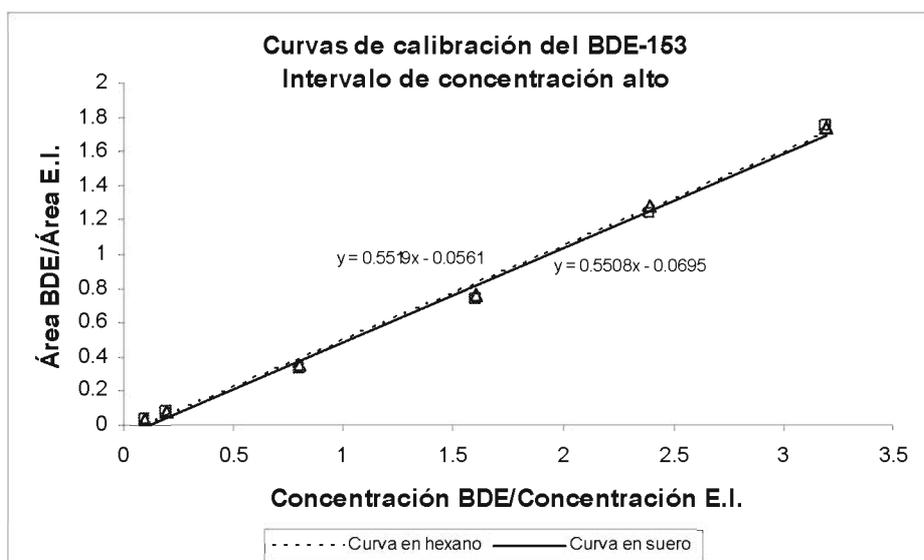


Figura 17. Efecto de matriz para el BDE-153. Concentraciones: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ppb, estándar interno BDE-77 (5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

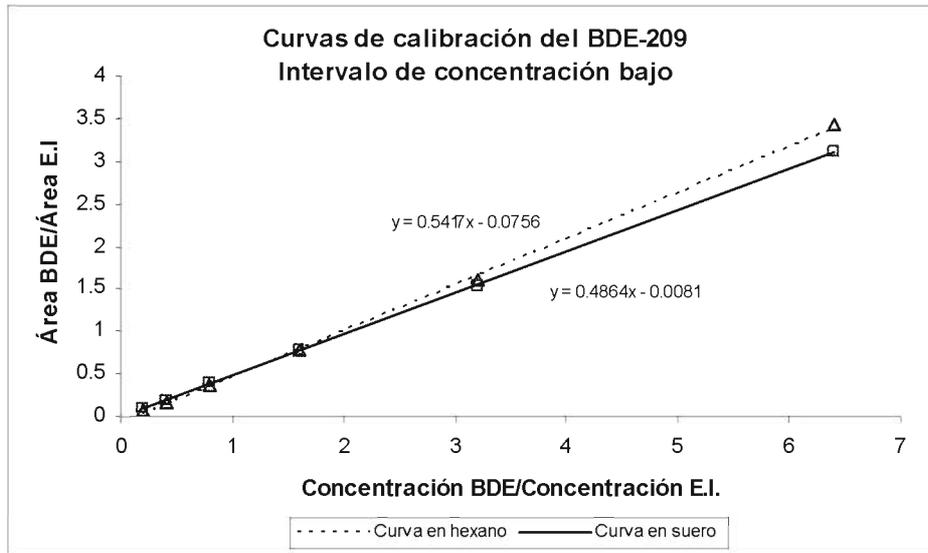


Figura 18. Efecto de matriz para el BDE-209. Concentraciones: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ppb, estándar interno BDE-77 (0.5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

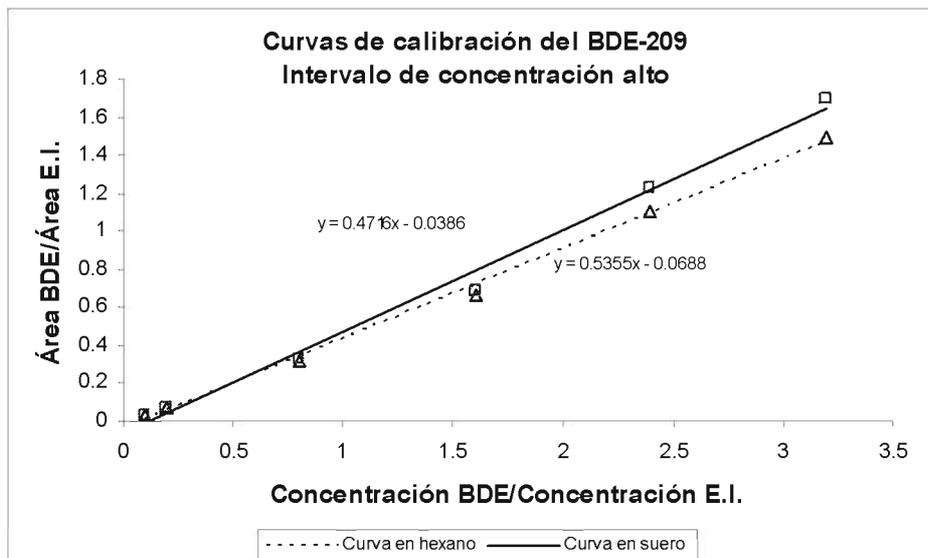


Figura 19. Efecto de matriz para el BDE-209. Concentraciones: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ppb, estándar interno BDE-77 (5 ppb). n=3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

4.2 Linealidad

Para determinar la linealidad se realizaron por triplicado curvas de calibración en suero de la mezcla de PBDEs en los intervalos de concentración de 0.1 a 3.2 ng/g, empleando el BDE-77 como estándar interno (0.5 ng/g); y de 0.5 a 16 ng/g, con el BDE-77 como estándar interno (5 ng/g). Veinticuatro horas previas al análisis, se pesaron alícuotas de 5 g de suero blanco en tubos de ensayo y se fortificaron con las diferentes concentraciones indicadas anteriormente, se agitaron en vortex por un minuto, se mezclaron por inversión durante 10 minutos y se guardaron en refrigeración protegidas de la luz. Las muestras fortificadas se analizaron bajo el mismo esquema que se describe en el punto 2.4.4 de la metodología. Los coeficientes de correlación (r), pendientes (m) y ordenadas al origen (b) obtenidas se presentan en las Tablas 13 y 14, y en las Figuras 20 y 21 las curvas de calibración correspondientes.

Tabla 13.- Linealidad del método analítico para los PBDEs
(Intervalo de concentración bajo)

Congéner	Curva	r	m	b
BDE-47	1	1.000	0.84	0.04
	2	1.000	0.85	0.03
	3	1.000	0.83	0.04
	Media	1.000	0.84	0.04
BDE-100	1	1.000	0.54	0.004
	2	1.000	0.43	0.01
	3	0.999	0.54	0.005
	Media	1.000	0.50	0.01
BDE-99	1	0.999	0.53	0.01
	2	1.000	0.37	-0.001
	3	0.999	0.53	0.01
	Media	0.999	0.48	0.01
BDE-154	1	1.000	0.50	0.005
	2	0.999	0.52	-0.001
	3	1.000	0.51	0.002
	Media	1.000	0.51	0.002
BDE-153	1	1.000	0.50	0.003
	2	1.000	0.50	-0.002
	3	0.999	0.50	-0.001
	Media	1.000	0.50	0.0002
BDE-209	1	1.000	0.49	-0.005
	2	1.000	0.49	-0.01
	3	0.999	0.49	-0.01
	Media	0.999	0.49	-0.01

Coefficiente de correlación (r), pendiente (m) y ordenada al origen (b). Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de PBDEs en suero blanco, las concentraciones empleadas fueron: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/g, y 0.5 ng/g del BDE-77 como estándar interno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

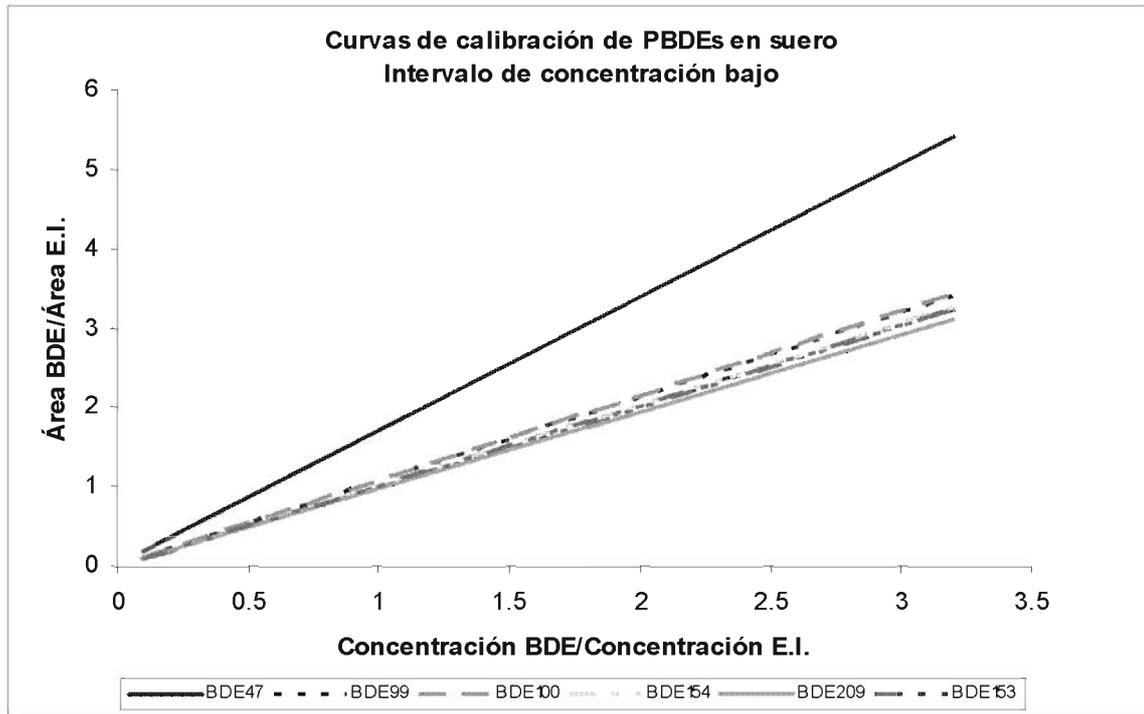


Figura 20. Curvas de calibración de los PBDEs en suero. Concentraciones empleadas: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/g, estándar interno BDE-77 (0.5 ng/g). n = 3. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

Tabla 14.- Linealidad del método analítico para los PBDEs
(Intervalo de concentración alto)

Congéner	Curva	r	m	b
BDE-47	1	0.995	0.89	-0.11
	2	0.993	0.90	-0.06
	3	0.996	0.86	-0.07
	Media	0.995	0.89	-0.09
BDE-100	1	0.997	0.60	-0.06
	2	0.998	0.64	0.02
	3	0.998	0.62	-0.04
	Media	0.998	0.62	-0.03
BDE-99	1	0.995	0.58	-0.07
	2	0.997	0.62	-0.07
	3	0.994	0.62	-0.08
	Media	0.996	0.61	-0.07
BDE-154	1	0.997	0.51	-0.06
	2	0.996	0.53	-0.02
	3	0.995	0.58	-0.09
	Media	0.996	0.54	-0.06
BDE-153	1	0.996	0.54	-0.08
	2	0.997	0.55	-0.04
	3	0.995	0.56	-0.09
	Media	0.996	0.55	-0.07
BDE-209	1	0.995	0.47	-0.08
	2	0.996	0.46	-0.05
	3	0.996	0.49	-0.08
	Media	0.996	0.47	-0.07

Coefficiente de correlación (r), pendiente (m) y ordenada al origen (b). Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de PBDEs en suero blanco, las concentraciones empleadas fueron: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ng/g, y 5 ng/g del BDE-77 como estándar interno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

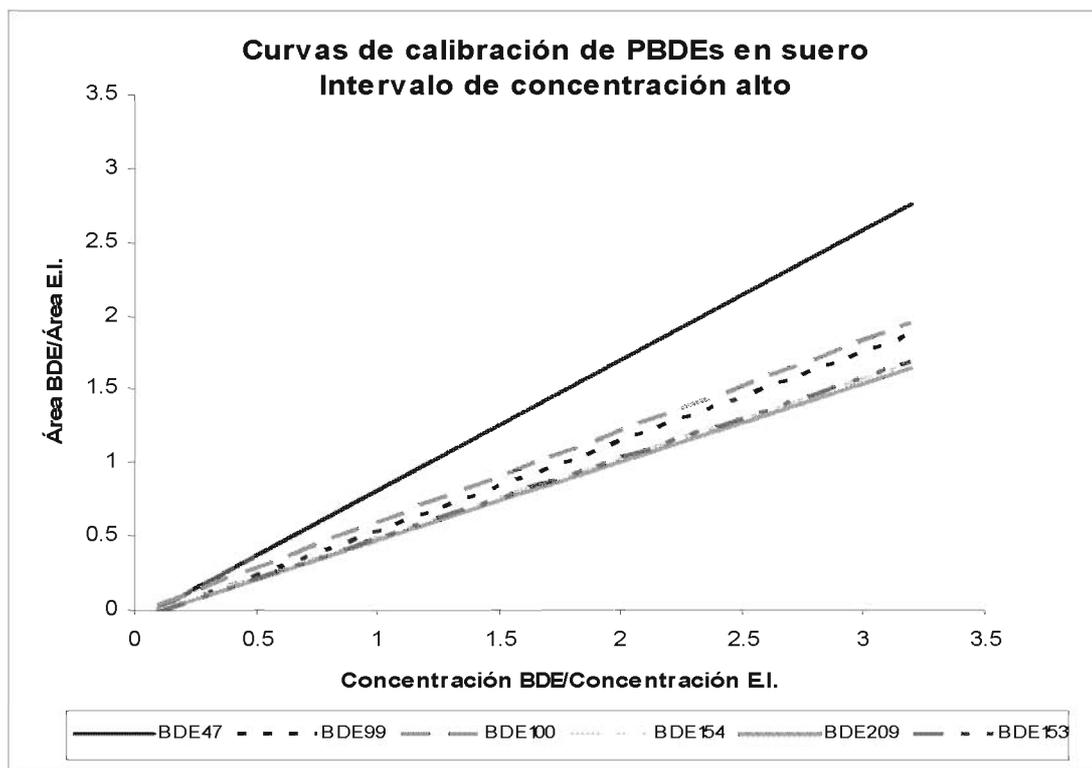


Figura 21. Curvas de calibración de los PBDEs en suero. Concentraciones empleadas: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ng/g, estándar interno BDE-77 (5 ng/g). $n = 3$. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

Las curvas de calibración de todos los congéneres fueron lineales ya que los coeficientes de correlación fueron iguales o mayores a 0.99, para ambos intervalos de concentración. La ordenada al origen fue de -0.012 a 0.015 para el intervalo de concentración bajo y de -0.11 a -0.03 para el intervalo alto (no fueron estadísticamente diferentes a cero). La pendiente de los BDEs 47, 99, 100, 153, 154 y 209 fueron: 0.84, 0.48, 0.50, 0.50, 0.51 y 0.49, respectivamente para el intervalo de concentración bajo y de 0.89, 0.61, 0.62, 0.55, 0.54 y 0.54, respectivamente para el intervalo alto.

4.3 Precisión

La precisión se evaluó con la repetibilidad y la reproducibilidad del método mediante el análisis de tres réplicas.

4.3.1 Repetibilidad

La repetibilidad se determinó mediante el análisis de triplicados de estándares de concentración: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/g (intervalo de concentración bajo); y 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ng/g (intervalo de concentración alto) de la mezcla de PBDEs en suero blanco. Veinticuatro horas previas al análisis, se pesaron alícuotas de 5 g de suero blanco en tubos de ensayo y se fortificaron con las diferentes concentraciones indicadas anteriormente, se agitaron en vortex por un minuto, se mezclaron por inversión durante 10 minutos y se guardaron en refrigeración protegidas de la luz. Las muestras fortificadas se analizaron bajo el mismo esquema que se describe en el punto 2.4.4 de la metodología. En las Tablas 15 y 16 se indican los coeficientes de variación (% CV) de la relación del área bajo la curva de cada uno de los PBDEs dividido entre el área bajo la curva del estándar interno (respuesta) para ambos intervalos de concentración.

Tabla 15. Repetibilidad del método analítico para los PBDEs (Intervalo de concentración bajo)

Concentración (ng/g)	% CV					
	BDE-47	BDE-100	BDE-99	BDE-154	BDE-153	BDE-209
0.1	2.5	9.4	16.5	5.9	2.9	1.1
0.2	2.0	10.4	20.2	0.8	1.3	3.4
0.4	1.2	11.6	20.3	1.5	0.7	1.1
0.8	1.3	12.7	22.9	1.5	1.1	0.6
1.6	1.2	11.7	19.1	1.8	0.5	1.0
3.2	1.1	12.6	19.3	1.4	0.2	0.4

Los valores reportados son el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) de la respuesta (Área bajo la curva del BDE/Área bajo la curva del estándar interno) de tres réplicas. Concentraciones empleadas: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/g, estándar interno BDE-77 (0.5 ng/g). Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

Tabla 16. Repetibilidad del método analítico para los PBDEs (Intervalo de concentración alto)

Concentración (ng/g)	% CV					
	BDE-47	BDE-100	BDE-99	BDE-154	BDE-153	BDE-209
0.5	18.7	27.1	5.6	14.3	14.7	20.0
1	3.4	10.9	6.5	6.0	7.1	6.2
4	12.9	16.1	6.8	28.2	13.7	11.2
8	7.8	17.0	8.4	7.2	6.0	4.8
12	1	5.7	2.9	9.4	8.7	8.4
16	3.3	3.2	4.5	5.6	2.9	5.1

Los valores reportados son el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) de la respuesta (Área bajo la curva del BDE/Área bajo la curva del estándar interno) de tres réplicas. Concentraciones empleadas: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ng/g, estándar interno BDE-77 (5 ng/g). Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

De acuerdo a los porcentajes del coeficiente de variación obtenidos, se concluye que el método analítico fue repetible ya que este parámetro estuvo dentro del intervalo de aceptación del 16 al 23% (Horwitz, 1982) excepto para las concentraciones de 0.5 ng/g del BDE-100 (27.1%) y de 4 ng/g del BDE-154 (28.2%); sin embargo éstos estuvieron dentro del porcentaje de variación del 36% para una concentración menor o igual a 1 ppb y del 32% para una concentración entre 1 y 10 ppb, establecido por la AOAC Peer Verified Methods Policies and Procedures (1993).

4.3.2 Reproducibilidad

La reproducibilidad del método, se determinó en función del porcentaje del coeficiente de variación de la pendiente obtenida de tres curvas de calibración independientes, en los intervalos de concentración de 0.1 a 3,2 ng/g, y de 0.5 a 16 ng/g. Veinticuatro horas previas al análisis, se pesaron alícuotas de 5 g de suero blanco en tubos de ensayo y se fortificaron con las diferentes concentraciones indicadas anteriormente, se agitaron en vortex por un minuto, se mezclaron por inversión durante 10 minutos y se guardaron en refrigeración protegidas de la luz. Las muestras fortificadas se analizaron bajo el mismo esquema que se describe en el punto 2.4.4 de la metodología. Los coeficientes de variación obtenidos se presentan a continuación:

Tabla 17. Reproducibilidad del método analítico para los PBDEs (Intervalo de concentración bajo)

Congéner	Pendiente				% CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Media	
BDE-47	0.84	0.85	0.83	0.84	1.2
BDE-100	0.54	0.43	0.54	0.50	12.6
BDE-99	0.53	0.37	0.53	0.48	19.2
BDE-154	0.50	0.53	0.51	0.51	1.6
BDE-153	0.50	0.50	0.50	0.50	0.2
BDE-209	0.49	0.49	0.49	0.49	0.2

% CV = Porcentaje del coeficiente de variación. Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de PBDEs en suero blanco, las concentraciones empleadas fueron: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/g, y 0.5 ng/g del BDE-77 como estándar interno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

Tabla 18.- Reproducibilidad del método analítico para los PBDEs (Intervalo de concentración alto)

Congéner	Pendiente				% C.V.
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Media	
BDE-47	0.89	0.90	0.86	0.89	2.3
BDE-100	0.60	0.64	0.62	0.62	3.3
BDE-99	0.58	0.62	0.62	0.61	4.3
BDE-154	0.51	0.53	0.59	0.54	7.0
BDE-153	0.54	0.54	0.58	0.55	4.6
BDE-209	0.51	0.52	0.57	0.54	6.1

% CV = Porcentaje del coeficiente de variación. Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de PBDEs en suero blanco, las concentraciones empleadas fueron: 0.5, 1, 4, 8, 12 y 16 ng/g, y 5 ng/g del BDE-77 como estándar interno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

De acuerdo a los resultados obtenidos para cada uno de los analitos, se concluye que el método analítico fue reproducible ya que el porcentaje del coeficiente de variación de cada una de las pendientes fue menor al 23% (Horwitz, 1982).

4.4 Porcentaje de recobro

Con la finalidad de evaluar el método de extracción, se fortificaron por triplicado alícuotas de 5 g de suero blanco cada una con disoluciones patrón de la mezcla de PBDEs y del estándar interno, en niveles de concentración diferentes a los de las curvas de calibración. Las concentraciones empleadas fueron las siguientes: Para la curva de calibración de intervalo de concentración bajo: 0.3 ng/g (control bajo), 1.2 ng/g (control medio) y 2.5 ng/g (control alto). Para la curva de calibración de intervalo

de concentración alto: 3 ng/g (control bajo), 10 ng/g (control medio) y 15 ng/g (control alto). Las muestras se agitaron en vortex por un minuto, se mezclaron por inversión durante 10 minutos y se dejaron en reposo a 5°C por 24 horas, antes de procesarlas bajo el mismo esquema que se describe en el punto 2.4.4 de la metodología.

De acuerdo a la AOAC Peer Verified Methods Policies and Procedures (1993) el método de extracción es aceptado si el porcentaje de recobro está entre el 50 y el 120% para una concentración menor o igual a 1 ppb, para concentraciones de 1 a 10 ppb entre el 60 y el 120% y para concentraciones de 10 a 100 ppb entre el 70 y el 120%. Los resultados que se muestran en las Tablas 19 y 20 son la media de los triplicados y todos cumplen el criterio de aceptación establecido.

Tabla 19. Porcentaje de recobro de muestras de suero fortificadas con PBDEs (Intervalo de concentración bajo)

Congéner	Concentración (ng/g)		
	0.3 ng/g (baja)	1.2 ng/g (media)	2.5 ng/g (alta)
BDE-47	101	98	99
BDE-100	92	91	98
BDE-99	88	89	98
BDE-154	98	96	98
BDE-153	96	95	99
BDE-209	96	94	99

Los valores reportados son el promedio de tres réplicas. Los valores aceptables son: de 50% a 120% para una concentración menor o igual a 1 ppb; de 60% a 120% para en intervalo de concentración de 1 a 10 ppb; y de 70% a 120% para un intervalo de concentración de 10 a 100 ppb (AOAC Peer Verified Methods Policies and Procedures, 1993). Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

Tabla 20. Porcentaje de recobro de muestras de suero fortificadas con PBDEs (Intervalo de concentración alto)

Congéner	Concentración (ng/g)		
	5 ng/g (baja)	10 ng/g (media)	15 ng/g (alta)
BDE-47	85	99	97
BDE-100	92	108	109
BDE-99	90	110	112
BDE-154	85	102	102
BDE-153	86	102	102
BDE-209	87	102	102

Los valores reportados son el promedio de tres réplicas. Los valores aceptables son: de 50% a 120% para una concentración menor o igual a 1 ppb; de 60% a 120% para en intervalo de concentración de 1 a 10 ppb; y de 70% a 120% para un intervalo de concentración de 10 a 100 ppb (AOAC Peer Verified Methods Policies and Procedures, 1993). Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

4.5 Límites de detección y de cuantificación

Para estimar estos parámetros se realizaron tres curvas de calibración de la mezcla de PBDEs en suero blanco. Las concentraciones empleadas fueron: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/g, utilizando el BDE-77 como del estándar interno (0.5 ng/g). Las muestras se agitaron en vortex por un minuto, se mezclaron por inversión durante 10 minutos y se dejaron en reposo a 5°C por 24 horas. Las muestras fortificadas se analizaron bajo el mismo esquema que se describe en el punto 2.4.4.1 de la metodología. El cálculo para estimar los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC) se realizó de acuerdo al método descrito por Miller y Miller, (2004). Los valores promedios obtenidos se muestran en la Tabla 21.

Tabla 21. Límites de detección y cuantificación del método analítico

Congéner	LD ¹ (ng/g)	LC ² (ng/g)
BDE-47	0.033	0.113
BDE-100	0.052	0.174
BDE-99	0.054	0.180
BDE-154	0.048	0.163
BDE-153	0.044	0.147
BDE-209	0.046	0.154

¹ LD = límite de detección. ² LC = límite de cuantificación. Los LD y LC se calcularon de acuerdo al método de Miller y Miller (2004) y los valores reportados son el promedio de 3 curvas de calibración en suero blanco, las concentraciones empleadas fueron: 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 y 3.2 ng/g, y 0.5 ng/g del BDE-77 como estándar interno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

4.6 Control de calidad

Al no contar con un estándar certificado en suero para cada uno de los analitos, se prepararon dos estándares de control de calidad. Para lo cual se fortificaron 5 g de suero blanco con una mezcla de PBDEs en hexano, en concentraciones diferentes a las empleadas para construir las curvas de calibración, éstas fueron de 0.5 y de 3 ng/g, se prepararon tres alícuotas por cada concentración. Como estándar interno se empleó el congéner BDE-77 en concentraciones de 0.5 y 5 ng/g. Las alícuotas se agitaron en vortex por un minuto, se mezclaron por inversión durante 10 minutos y se

dejaron en reposo a 5°C por 24 horas. Posteriormente se analizaron bajo el mismo esquema que se describe en el punto 2.4.4 de la metodología. Los resultados obtenidos del porcentaje de recobro, la media y más menos dos desviaciones estándar de los estándares de control de calidad se presentan en las Tablas 22 y 23.

Tabla 22. Porcentaje de recobro de los PBDEs de los estándares de control de calidad en suero

Congéner	0.5 ng/g	3 ng/g
BDE-47	103	102
BDE-100	97	106
BDE-99	96	107
BDE-154	100	110
BDE-153	100	108
BDE-209	98	113

Los valores reportados son el promedio de tres réplicas. Los valores aceptables son: de 50% a 120% para una concentración menor o igual a 1 ppb; y de 60% a 120% para en intervalo de concentración de 1 a 10 ppb (AOAC Peer Verified Methods Policies and Procedures, 1993). Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

Tabla 23. Concentración experimental de los PBDEs de los estándares de control de calidad en suero

Congéner	Concentración (ng/g)			
	0.5		3	
	Media	± 2 DE	Media	± 2 DE
BDE-47	0.52	0.026	3.07	1.126
BDE-100	0.49	0.034	3.17	1.870
BDE-99	0.48	0.050	3.20	2.234
BDE-154	0.46	0.072	3.30	1.742
BDE-153	0.46	0.075	3.23	1.684
BDE-209	0.47	0.075	3.40	1.464

Los valores reportados son el promedio de tres réplicas. ± 2 DE = mas menos dos desviaciones estándar. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

De acuerdo a la AOAC Peer Verified Methods Policies and Procedures (1993) el porcentaje de recobro de los estándares de control de calidad cumplen el criterio de aceptación.

4.6.1 Construcción de las gráficas de control de calidad

El objetivo de las gráficas de control de calidad es vigilar la variabilidad (precisión) a lo largo del análisis de las muestras problema. Para ello, el eje de las ordenadas se construye con los resultados reportados en la Tabla 23 y en el eje de las abscisas se reporta el valor experimental del estándar de control de calidad (0.5 ng/g ó 3 ng/g) cuantificado por cada lote de 11 muestras problema. Las gráficas se presentan en las Figuras de la 22 a la 33.

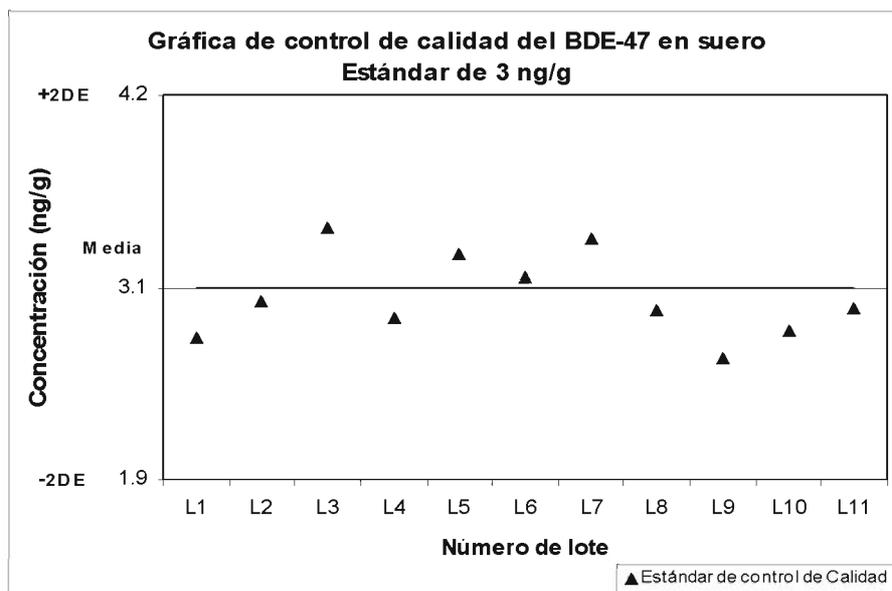


Figura 22. Gráfica de control de calidad del BDE-47 en suero. Concentración del estándar igual a 3 ng/g. L1 a L11 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

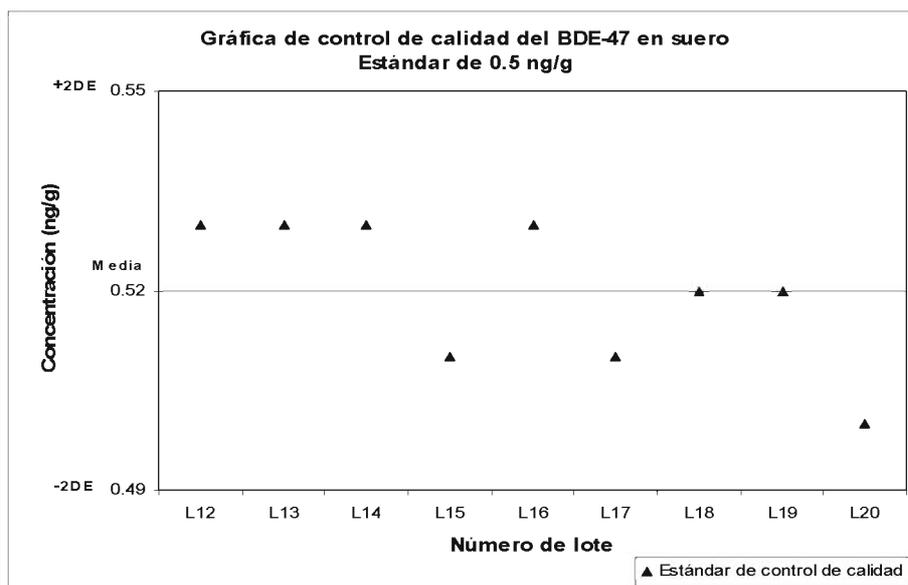


Figura 23. Gráfica de control de calidad del BDE-47 en suero. Concentración del estándar igual a 0.5 ng/g. L12 a L20 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

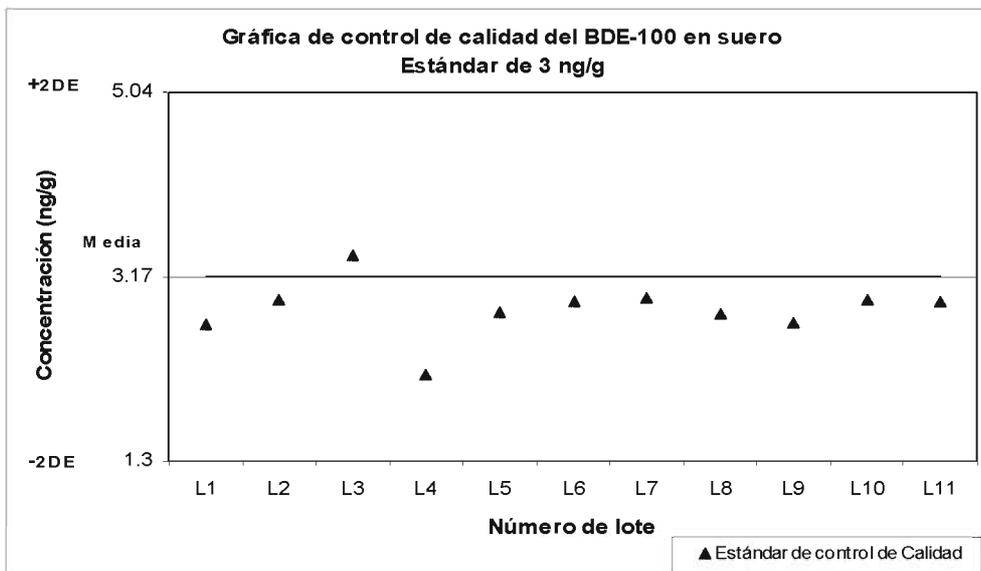


Figura 24. Gráfica de control de calidad del BDE-100 en suero. Concentración del estándar igual a 3 ng/g. L1 a L11 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

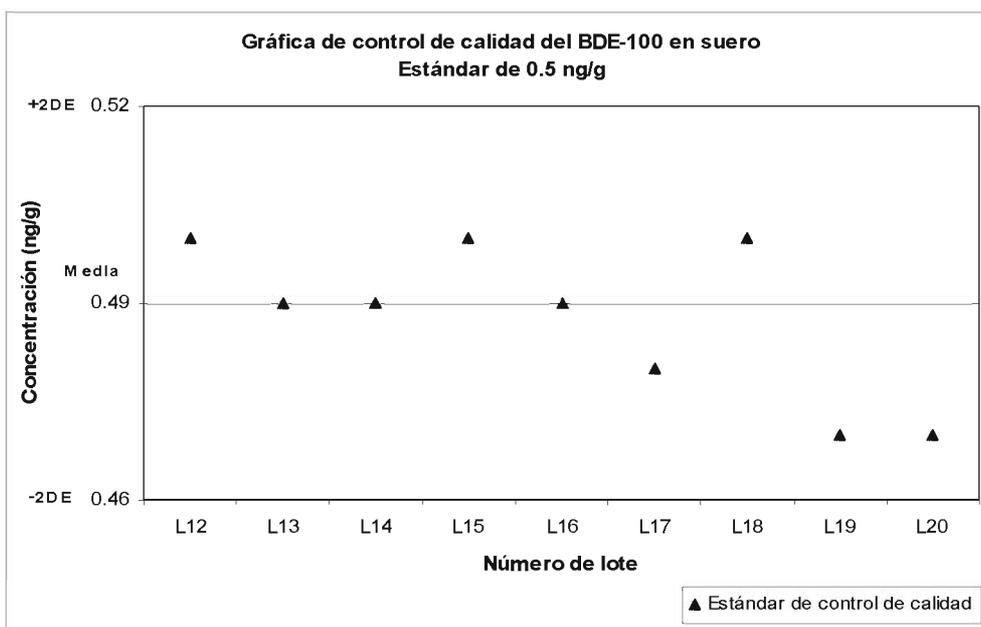


Figura 25. Gráfica de control de calidad del BDE-100 en suero. Concentración del estándar igual a 0.5 ng/g. L12 a L20 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

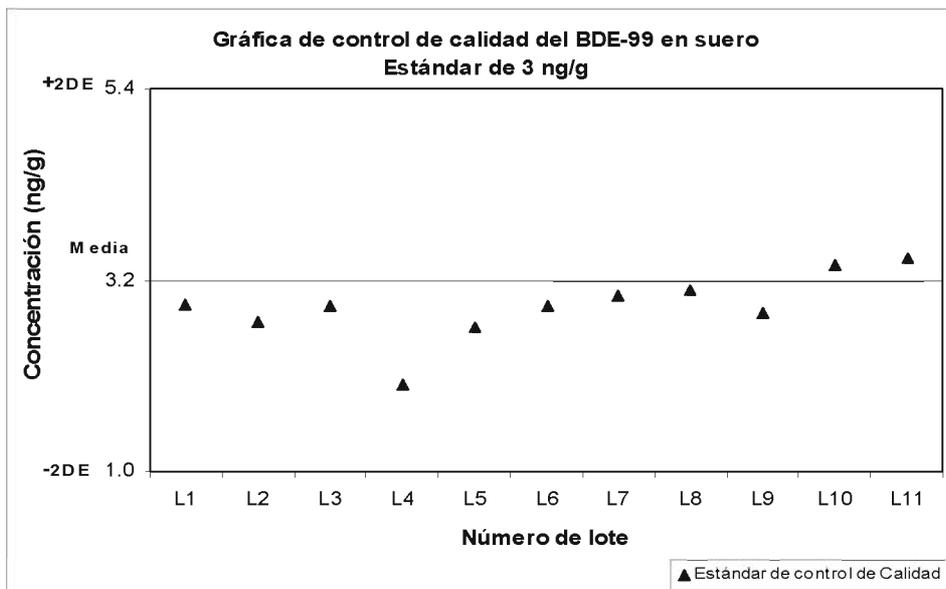


Figura 26. Gráfica de control de calidad del BDE-99 en suero. Concentración del estándar igual a 3 ng/g. L1 a L11 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

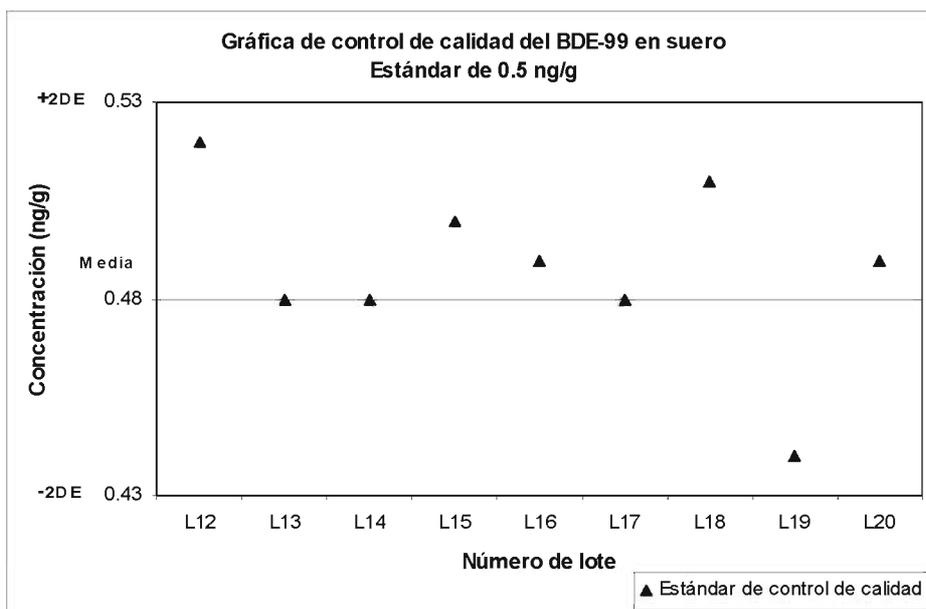


Figura 27. Gráfica de control de calidad del BDE-99 en suero. Concentración del estándar igual a 0.5 ng/g. L12 a L20 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

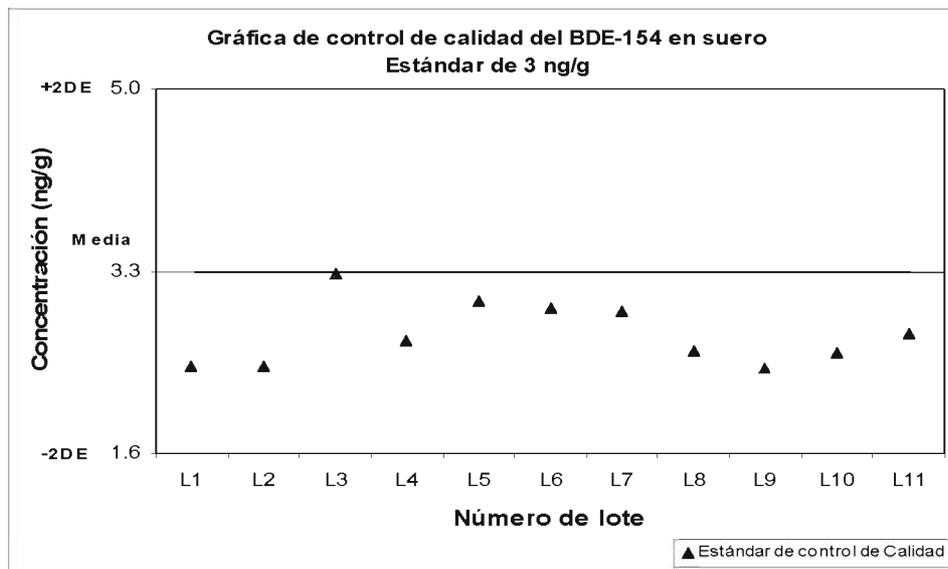


Figura 28. Gráfica de control de calidad del BDE-154 en suero. Concentración del estándar igual a 3 ng/g. L1 a L11 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

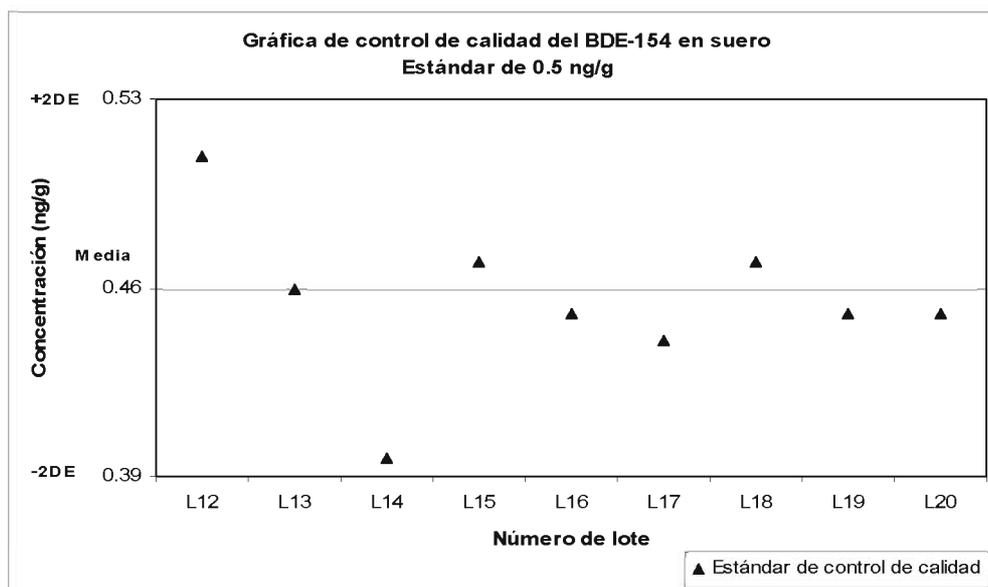


Figura 29. Gráfica de control de calidad del BDE-154 en suero. Concentración del estándar igual a 0.5 ng/g. L12 a L20 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

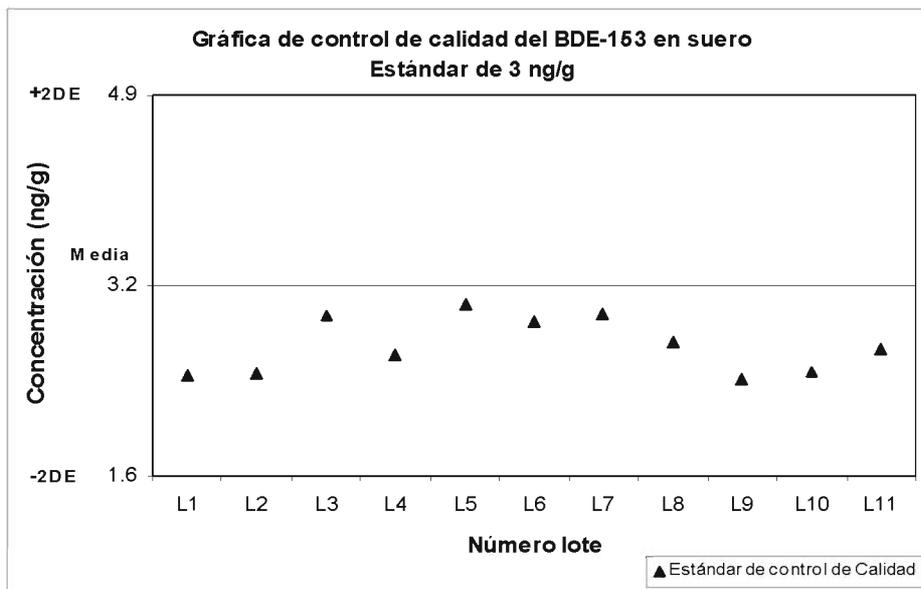


Figura 30. Gráfica de control de calidad del BDE-153 en suero. Concentración del estándar igual a 3 ng/g. L1 a L11 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

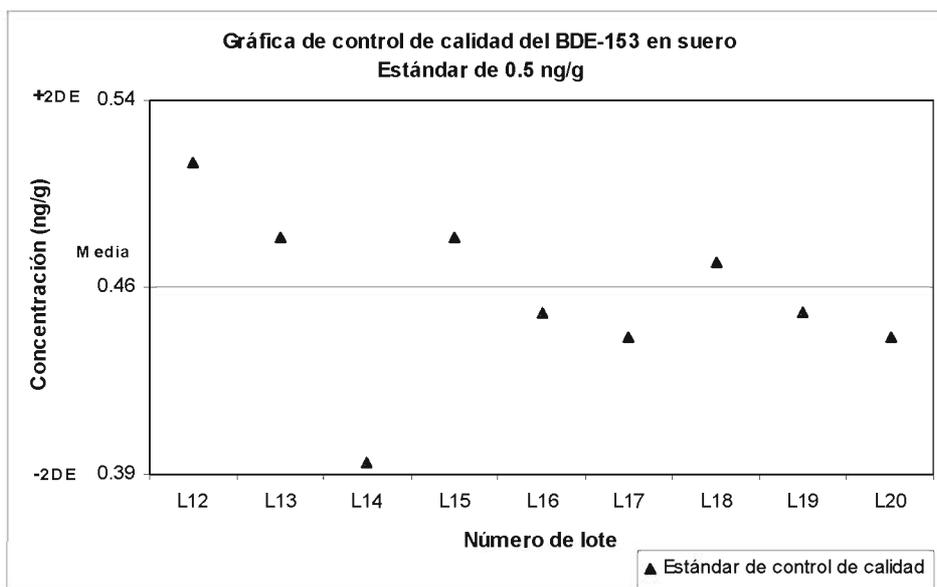


Figura 31. Gráfica de control de calidad del BDE-153 en suero. Concentración del estándar igual a 0.5 ng/g. L12 a L20 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

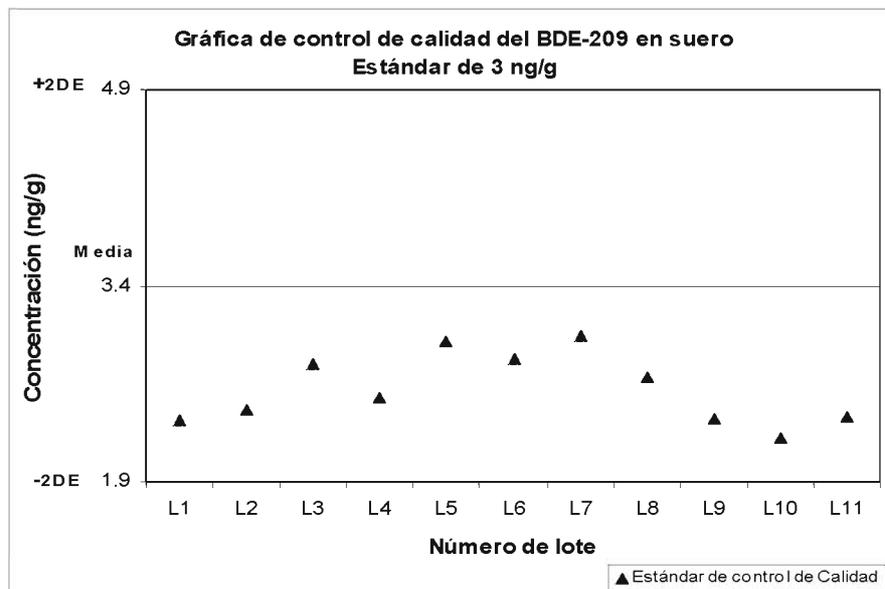


Figura 32. Gráfica de control de calidad del BDE-209 en suero. Concentración del estándar igual a 3 ng/g. L1 a L11 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

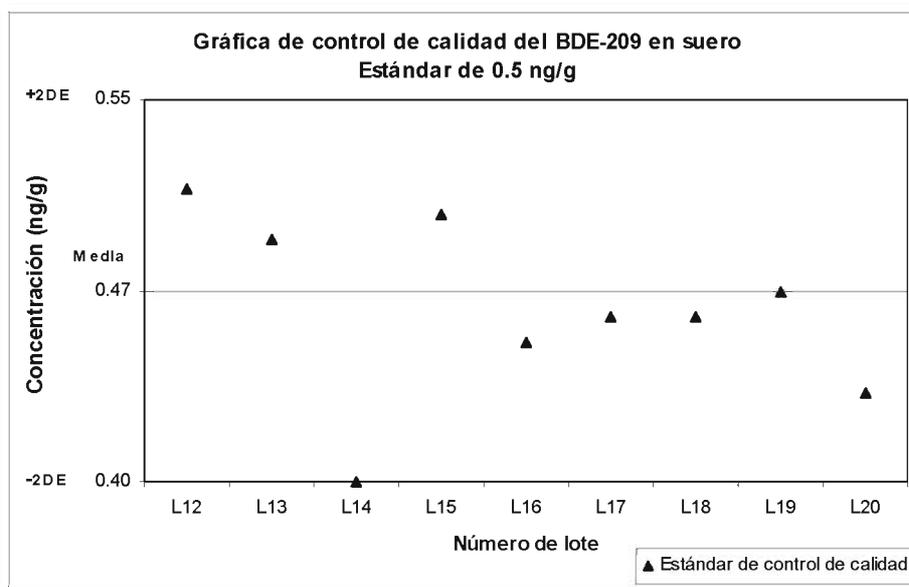


Figura 33. Gráfica de control de calidad del BDE-209 en suero. Concentración de estándar igual a 0.5 ng/g. L12 a L20 = Lote de 11 muestras problema cada uno. Las condiciones cromatográficas y el procedimiento de extracción se detallan en los apartados 2.4.1 y 2.4.4 de la metodología.

Si en una corrida el estándar de control de calidad no está dentro de especificaciones (± 2 D.E.), el lote de muestras que se procesó debe repetirse ya que el resultado no sería confiable. De acuerdo a las figuras anteriores (de la 22 a la 33) todos los puntos de control de calidad estuvieron dentro de los límites establecidos, por lo que las concentraciones que se cuantificaron de PBDEs en suero de las poblaciones estudiadas son confiables.

ANEXO II

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUÍS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL**

Evaluación de la exposición a PBDEs en niños de México

Cuestionario:

Fecha Día Mes Año

Localidad _____ Municipio _____ Estado _____

I. DATOS DEL NIÑO(A)

Folio: _____

1. Generales

1.1. Nombre del niño(a): _____

1.2. Sexo: F () M () 1.3. Fecha de nacimiento: _____

1.4. Peso: _____ 1.5. Talla: _____

1.6. El niño vive con:

Madre ()

Padre ()

Ambos ()

Abuelos ()

Otro(s) () Especificar: _____

1.7. Domicilio

1.8. Tiempo de Residencia _____

1.9. Si el tiempo de residencia es menor a 5 años escribir el domicilio anterior y el tiempo

1.10. Grado escolar: _____

2. Salud y alimentación

2.1. Número total de hermanos: _____

2.2. El niño encuestado que número de hijo es: _____

2.3. ¿La madre fumo durante el embarazo?

No () Si ()

2.4. ¿El nacimiento del niño fue por?

Parto normal () Cesárea ()

2.5. ¿La madre tuvo problemas durante el embarazo?

No () Si () Especificar: _____

2.6. ¿La madre tuvo problemas durante el parto?

No () Si () Especificar: _____

2.7. El niño recibió seno materno?

No () Si () ¿Por cuanto tiempo? _____

2.8. ¿Que vacunas se le han aplicado al niño(a)?

- BCG (tuberculosis) ()
- SABIN (Poliomielitis) ()
- DPT (Difteria, tos ferina, tétanos) ()
- HB (Hepatitis B) ()
- Hib (infecciones por influenza b) ()
- SRP (sarampión, rubéola, parotiditis) ()
- Td (tétanos, difteria) ()
- SR (sarampión, rubéola) ()
- Neumococo conjugada ()
- Varicela ()
- Otra(s) () Especificar: _____
- Todas ()

2.9. ¿Qué padecimientos ha sufrido el niño?

- | | Especificar |
|---------------------------------------|-------------|
| Hipotiroidismo | () _____ |
| Alteraciones en el sistema nervioso | () _____ |
| Disminución del aprendizaje y memoria | () _____ |
| Alteraciones en la conducta | () _____ |
| Malformaciones físicas | () _____ |
| Cáncer hepático | () _____ |
| Padecimientos renales | () _____ |
| Enfermedades respiratorias | () _____ |
| Irritaciones oculares | () _____ |
| Irritaciones dérmicas | () _____ |
| Úlceras gastrointestinales | () _____ |
| Alergias | () _____ |
| Otra(s) | () _____ |

2.10. ¿Ha estado enfermo el niño en el último mes?

No () Si () Especificar: _____

2.11. ¿Ha recibido el niño algún medicamento en el último mes?

No () Si () Especificar: _____

2.12. ¿Su hijo toma leche de vaca?

No () Si ()

2.12.1. Con que frecuencia

- Diario ()
- 5 veces por semana ()
- Menos de 5 veces por semana ()
- Otra () Especificar: _____

2.13. ¿Su hijo come carne?

No () Si ()

2.13.1. ¿De cual?

Pollo () Res () Cerdo () Otra () Especificar: _____

2.13.2. Con que frecuencia

Diario ()
3 veces por semana ()
1 vez por semana ()
1 vez por quincena ()
1 vez por mes ()
Otra () Especificar: _____

2.14. ¿Su hijo come pescados y mariscos?

No () Si ()

2.14.1. ¿De cual?

Especificar

Mariscos () _____
Pescado () _____
Otro(s) () _____

2.14.2. Con que frecuencia

Diario ()
3 veces por semana ()
1 vez por semana ()
1 vez por quincena ()
1 vez por mes ()
Otra () Especificar: _____

2.15. ¿Su hijo come atún?

No () Si ()

2.15.1. Con que frecuencia

Diario ()
3 veces por semana ()
1 vez por semana ()
1 vez por quincena ()
1 vez por mes ()
Otra () Especificar: _____

2.16. ¿Su hijo come huevo?

No () Si ()

2.16.1. Con que frecuencia

Diario ()
3 veces por semana ()
1 vez por semana ()
1 vez por quincena ()
1 vez por mes ()
Otra () Especificar: _____

2.17. ¿Su hijo come otros alimentos de origen animal (yogurt, mantequilla, queso, crema, aceite de bacalao)

No () Si ()

Especificar que alimentos y con que frecuencia los consume: _____

2.18. Con que frecuencia su hijo se baña

- Diario ()
- 3 veces por semana ()
- 1 vez por semana ()
- 1 vez por quincena ()
- 1 vez por mes ()
- Otra () Especificar: _____

2.19. Con que frecuencia su hijo se cambia de ropa

- Diario ()
- 3 veces por semana ()
- 1 vez por semana ()
- 1 vez por quincena ()
- 1 vez por mes ()
- Otra () Especificar: _____

II. DATOS FAMILIARES

1. Información de la madre:

1.1. Nombre: _____ 1.2. Edad _____
 1.3. Domicilio (solo si es diferente a la del niño): _____

1.4. De acuerdo a la siguiente lista indicar ocupación actual:

Ocupación:		Antigüedad	Horario	Especificar que hace:
Técnica	()	_____	_____	_____
Profesionista	()	_____	_____	_____
Oficinista	()	_____	_____	_____
Agricultora	()	_____	_____	_____
Ganadera	()	_____	_____	_____
Obrera	()	_____	_____	_____
Comerciante	()	_____	_____	_____
Empleada en un comercio	()	_____	_____	_____
Empleada doméstica	()	_____	_____	_____
Pepenadora	()	_____	_____	_____
Ama de casa	()	_____	_____	_____
Otra(s)	()	_____	_____	_____

1.5. Si su ocupación actual es menor de 5 años indicar su ocupación anterior.

Ocupación:	Antigüedad	Horario	Especificar que hacia:
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

1.6. ¿El niño suele acompañarlo en algunas ocasiones mientras trabaja o lo apoya en algunas actividades en el trabajo?

No () Si () Especificar: _____

1.7. ¿El niño juega con materiales (ropa, herramienta, equipos) que utiliza la madre en su trabajo?

No () Si () Especificar: _____

2. Información del padre:

2.1. Nombre: _____ 2.2. Edad _____

2.3. De acuerdo a la siguiente lista indicar ocupación actual:

Ocupación:	()	Antigüedad	Horario	Especificar que hace:
Técnico	()	_____	_____	_____
Profesionista	()	_____	_____	_____
Oficinista	()	_____	_____	_____
Agricultor	()	_____	_____	_____
Ganadero	()	_____	_____	_____
Pescador	()	_____	_____	_____
Minero	()	_____	_____	_____
Obrero	()	_____	_____	_____
Comerciante	()	_____	_____	_____
Electrónico	()	_____	_____	_____
Chofer	()	_____	_____	_____
Albañil	()	_____	_____	_____
Empleado en un comercio	()	_____	_____	_____
Pepeñador	()	_____	_____	_____
Otra(s)	()	_____	_____	_____

2.4. Si su ocupación actual es menor de 5 años indicar su ocupación anterior.

Ocupación:	Antigüedad	Horario	Especificar que hacia:
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

2.5. ¿El niño suele acompañarlo en algunas ocasiones mientras trabaja o lo apoya en algunas actividades en el trabajo?

No () Si () Especificar: _____

2.6. ¿El niño juega con materiales que utiliza el padre en su trabajo (ropa, herramienta, equipos)?

No () Si () Especificar: _____

3. Otros antecedentes familiares:

3.1. Antecedentes de enfermedades y patologías familiares.

Enfermedad	¿Quién la padece?					Especificar
	Madre	Padre	Hermanos /primos	Abuelos	Tíos	
Hipotiroidismo						
Alteraciones en el sistema nervioso						
Disminución del aprendizaje y memoria						
Alteraciones en la conducta						
Malformaciones físicas						
Cáncer hepático						
Padecimientos renales						

Enfermedades respiratorias						
Irritaciones oculares						
Irritaciones dérmicas						
Úlceras gastrointestinales						
Alergias						
Trastornos hormonales en los ovarios						
Otra(s)						

3.2. ¿Algún integrante de la familia que viva con el niño trabaja en alguna de las siguientes actividades?

Ocupación:

		Antigüedad	Horario	Especificar que hace:
Técnico	()	_____	_____	_____
Oficinista	()	_____	_____	_____
Agricultor	()	_____	_____	_____
Obrero	()	_____	_____	_____
Comerciante	()	_____	_____	_____
Electrónico	()	_____	_____	_____
Albañil	()	_____	_____	_____
Pepenador	()	_____	_____	_____
Otra(s)	()	_____	_____	_____

3.3. ¿Algún integrante de la familia fuma dentro de la casa?

No () Si ()

3.3.1. Frecuencia

- Frecuentemente (5 a 7 días por semana) ()
 Regularmente (1 a 3 días por semana) ()
 Raramente (1 día por quincena) ()
 Otro () Especificar: _____

3.3.2. Número de cigarrillos

Menos de 3 () 3 () Más de 3 ()

3.4. ¿Tiene antecedentes familiares de alcoholismo?

No () Si ()

III. INFORMACIÓN ADICIONAL

1. ¿Cuál es la distancia de la escuela al domicilio del niño(a)?, en:

Número de cuadras: _____ Tiempo: _____

2. ¿Como se transporta el niño de la casa a la escuela?

- Caminando ()
 En bicicleta ()
 En automóvil ()
 Otro(s) () Especificar: _____

3. ¿Como se transporta el niño de la escuela a la casa?

- Caminando ()
 En bicicleta ()
 En automóvil ()
 Otro(s) () Especificar: _____

4. ¿Las calles alrededor de la casa del niño se encuentran?
 Pavimentadas () Sin pavimentar ()

5. ¿De que materiales esta construida la casa?

	Madera	Adobe	Ladrillo	Cemento	Otros (especificar)
5.1. Paredes					
5.2. Techo					
5.3. Piso					

6. ¿Cuántas habitaciones tiene la casa? _____

7. ¿La casa cuenta con servicio de?:

- 7.1. Agua potable Si () No ()
 7.2. Drenaje Si () No ()
 7.3. Luz eléctrica Si () No ()

8. ¿Cerca de la casa existen?

- Basureros () A que distancia: _____
 Fábricas () A que distancia: _____
 Parcelas () A que distancia: _____
 Otro(s) () Especificar: _____

9. ¿Con que frecuencia se realiza la limpieza de la casa?

	Diario	Cada tercer día	1 vez x semana	Cada quincena	Otro. Especificar
9.1 Barrer					
9.2 Sacudir					
9.3 Trapear					
9.4 Aspirar					
9.5 Otros/Especificar:					

10. ¿En casa cuanto tiempo pasa el niño?

- Dentro de la casa: _____
 Fuera de la casa: _____

11. ¿Cuáles son los lugares donde su hijo pasa la mayor parte del tiempo?

- Patio () Horas al día: _____ Días a la semana: _____
 Calle () Horas al día: _____ Días a la semana: _____
 Campo de fútbol () Horas al día: _____ Días a la semana: _____
 Parcela () Horas al día: _____ Días a la semana: _____
 Otro(s) () Especificar: _____

12. ¿El niño juega en algún momento del día? en:

- Tierra () Horas al día: _____ Días a la semana: _____
 Pasto () Horas al día: _____ Días a la semana: _____

Cemento () Horas al día: _____ Días a la semana: _____
Cerca de los () Horas al día: _____ Días a la semana: _____
Coches
Otro(s) () Especificar: _____

13. ¿En su casa cuenta con aparatos electrónicos como?

Televisión () ¿Cuántos? _____
Radio () ¿Cuántos? _____
Estéreo () ¿Cuántos? _____
Computadora () ¿Cuántos? _____
Celulares () ¿Cuántos? _____
Videojuegos () ¿Cuántos? _____
Otros juguetes () ¿Cuántos? _____
Otros () Especificar _____

14. ¿Cuánto tiempo ve el niño televisión?

Horas al día de lunes a viernes _____
Horas al día sábado y domingo _____

15. ¿Qué tiempo el niño trabaja en la computadora?

Horas al día _____ Días a la semana _____

16. ¿El niño juega con?

Videojuegos () Horas al día _____ Días a la semana _____
Otros juguetes () Especificar: _____
Electrónicos

IV. INFORMACIÓN DE LA ESCUELA

1. Nombre de la Escuela: _____

2. Dirección: _____

3. Teléfono: _____

4. Nombre del responsable: _____

5. Turnos

Matutino () Vespertino () Ambos ()

6. Horario de clases _____

7. Número de niños en:

Primero: _____
Segundo: _____
Tercero: _____
Cuarto: _____
Quinto: _____
Sexto: _____

8. Duración y horario del recreo o descanso: _____

9. ¿Cuántas horas clase a la semana de educación física reciben los niños?: _____

10. ¿La escuela cuenta con sala de computación?

No () Si ()

11. ¿Cuántas computadoras hay en la sala de computación? _____

12. ¿Cuántas horas clase a la semana de computación reciben los niños? _____

13. ¿Se les proporciona desayuno escolar a los niños?

No () Si ()

13.1 ¿Cuántos niños reciben desayuno escolar?

14. ¿Los niños reciben ayuda de algún programa social (como progresas)?

No () Si ()

14.1 ¿En que consiste la ayuda? _____

14.2 ¿Cuántos niños reciben la ayuda? _____

14.3 ¿Qué niños reciben la ayuda? _____

15. ¿Las calles alrededor de la escuela se encuentran?

Pavimentadas () Sin pavimentar ()

16. ¿Cerca de la escuela existen?:

Basureros () A que distancia: _____

Fábricas () A que distancia: _____

Parcelas () A que distancia: _____

Otro(s) () Especificar: _____

17. ¿De que materiales esta construida la escuela?

	Madera	Adobe	Ladrillo	Cemento	Otros (especificar)
17.1. Paredes					
17.2. Techo					
17.3. Piso					

18. ¿La escuela cuenta con servicio de?:

9.1. Agua potable Si () No ()

9.2. Drenaje Si () No ()

9.3. Luz eléctrica Si () No ()

19. ¿Con que frecuencia se realiza la limpieza de la escuela?

	Diario	Cada tercer día	1 vez x semana	Cada quincena	Otro. Especificar
19.1 Barrer					
19.2 Sacudir					
19.3 Trapear					
19.4 Aspirar					
19.5 Otros/Especificar:					

Tabla 1. Características sociodemográficas de los niños participantes

	Milpillas ¹ S.L.P. (n = 64)	El Refugio ² S.L.P. (n = 47)	Ciudad de Chihuahua (ZC) ¹ Chihuahua (n = 28)	San Juan Tilapa ¹ Edo. de México (n = 43)	Total (n = 182)
Edad (años)	*11 ± 1.8	*9.3 ± 1.7	*8.5 ± 1.8	*7.1 ± 2.8	*9 ± 2
			%		
Sexo					
Masculino	58	49	71	58	58
Femenino	42	51	29	42	42
Grado escolar					
Preescolar	----	----	----	26	6.5
1° a 3° primaria	14	62	64	44	47
4° primaria a 1° secundaria	84	38	36	28	47
Vive con					
Madre	5	15	11	7	10
Padre	----	2.1	----	----	0.5
Ambos	83	70	86	88	82
Abuelos	----	4.3	3.7	4.7	3.3
Tiempo de residencia					
< 3 años	4.7	8.5	11	12	9
3 - 6 años	3.1	11	36	37	22
9 - 12 años	19	40	21	14	24
> 12 años	48	23	18	14	26
Recibió seno materno					
Si	77	74	89	74	79
Tiempo de lactancia					
< 6 meses	5	19	21	19	16
6 a 12 meses	38	38	39	42	39
> 12 años	28	11	25	14	20

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades en México. ¹ Localidades cercanas a basurereros municipales: Milpillas San Luis Potosí; Zona conurbana a la ciudad de Chihuahua; y San Juan Tilapa Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio San Luis Potosí. n = número de muestras. *Media ± Desviación Estándar. ZC = zona conurbana.

Tabla 2. Características de salud de los niños participantes

	Milpillas ¹ S.L.P. (n = 64)	El Refugio ² S.L.P. (n = 47)	Ciudad de Chihuahua (ZC) ¹ Chihuahua (n = 28)	San Juan Tilapa ¹ Edo. de México (n = 43)	Total (n = 182)
	%				
Cartilla de vacunación					
Completa	86	89	86	93	89
Incompleta	0	2.1	14	7	6
Nació por					
Parto normal	55	70	86	86	74
Cesárea	9.4	21	14	14	15
Estuvo enfermo el último mes					
Si	22	21	32	44	30
No	67	70	61	53	63
Enfermedades del último mes					
Enfermedades respiratorias	17	8.5	29	33	22
Enfermedades G.I. ³	0	6.4	0	0	2
Alergias y otras ⁴	3.2	0	3.6	4.6	3
Tomo medicamentos el último mes					
Si	16	21	29	28	24
No	72	70	68	70	70
Índices de desnutrición					
Peso/edad					
Desnutrición aguda ⁵	5	2.1	11	9	7
Normal	95	96	89	91	93
Sobrepeso ⁷	0	2.1	0	0	0.5
Talla/edad					
Desnutrición crónica ⁶	0	0	0	7	2
Normal	97	89	93	93	93
Sobrepeso ⁷	3	11	7	0	5
Padecimientos (reportados por la madre)					
Alteración del sistema nervioso	13	6.4	7.1	9.3	9
Disminución del aprendizaje y memoria	14	8.5	18	2.3	11
Alteraciones de la conducta	1.6	6.4	11	4.7	6
Enfermedades respiratorias	27	28	54	35	36
Irritaciones oculares	6.3	6.4	7.1	4.7	6
Irritaciones dérmicas	13	2.1	0	4.7	5
Padecimientos gastrointestinales	9.4	4.3	0	0	3.4
Alergias	6.3	13	14	4.7	10
Malformaciones físicas	0	2.1	0	0	0.5
Hipotiroidismo	0	0	0	4.7	1

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades en México. ¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillas San Luis Potosí; Zona conurbana a la ciudad de Chihuahua; y San Juan Tilapa Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio San Luis Potosí. n = número de muestras. ZC = zona conurbana. ³ Enfermedades G.I. = Dolor de estómago, úlceras, parásitos. ⁴ Alergias y otras = erupciones cutáneas, salpullido, varicela, dolor de cabeza, dolor de menstrual. ⁵ Desnutrición aguda = <2 desviaciones estándar de z score. ⁶ Desnutrición crónica = <2 desviaciones estándar de z score. ⁷ Sobrepeso = >2 desviaciones estándar de z score.

Tabla 3. Características sociodemográficas de los padres y familiares de los niños participantes

	Milpillas ¹ S.L.P. (n = 64)	El Refugio ² S.L.P. (n = 47)	Ciudad de Chihuahua (ZC) ¹ Chihuahua (n = 28) %	San Juan Tilapa ¹ Edo. de México (n = 43)	Total (n = 182)
Madre					
Edad (años)	*37 ± 6	*36 ± 8	*35 ± 8	*32 ± 7	*35 ± 7.2
Problemas en el embarazo	3.1	2.1	25	14	11
Problemas en el parto	3.1	6.4	10.7	16	9
Trabaja fuera del hogar	44	34	39	26	36
Ocupación					
Pepenadora	25	0	0	0	6
Obrera	0	6.4	3.6	9.3	5
Agricultora	0	0	0	4.7	1
Otra ³	19	28	36	12	24
Padre					
Edad (años)	*41 ± 7	*38 ± 8	*35 ± 7	*35 ± 8	*37 ± 7.5
Ocupación					
Agricultor	31	28	3.6	37	25
Obrero	3.1	4.3	25	7	10
Pepenador y/o recolector de basura	25	0	0	0	6
Ladrillero	6.3	4.3	0	0	3
Otra ³	19	51	64	51	46
Tabaquismo	44	8.5	25	39	29
Alcoholismo	41	45	21	26	33

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades en México. ¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillas San Luis Potosí; Zona conurbana a la ciudad de Chihuahua; y San Juan Tilapa Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio San Luis Potosí. n = número de muestras. ZC = zona conurbana. *Media ± Desviación Estándar. ³ Otra: Comerciante, chofer, empleado de un comercio, profesionista, albañil, carpintero, profesionista, comerciante, empleada en un comercio, empleada doméstica.

Tabla 4. Padecimientos familiares de los niños participantes

	Milpillas ¹	El Refugio ²	Ciudad de Chihuahua (ZC) ¹	San Juan Tilapa ¹	Total
	S.L.P. (n = 64)	S.L.P. (n = 47)	Chihuahua (n = 28)	Edo. de México (n = 43)	(n = 182)
	%				
Padecimientos					
Alteraciones del sistema nervioso	3.1	11	32	33	20
Disminución del aprendizaje y memoria	3.1	0	21	0	6
Alteración conducta	4.7	2.1	3.6	0	3
Padecimientos renales	1.6	11	7.1	9.3	7
Enfermedades respiratorias	16	19	39	33	27
Irritaciones oculares	14	8.5	18	12	13
Irritaciones dérmicas	4.7	2.1	11	0	4.5
Padecimientos gastrointestinales	7.8	23	7.1	0	9.5
Alergias	17	11	29	0	14
Padecimientos matriz	6.3	11	11	4.7	8
Hipotiroidismo	0	6.4	3.6	0	2.5
Malformaciones físicas	0	2.1	3.6	9.3	4
Cáncer hepático	0	2.1	0	12	3.5
Otros padecimientos reportados					
Diabetes	19	33	7	41	25
Algún tipo de cáncer (cervico uterino matriz, seno, ombligo, estómago).	22	9.1	7	23	15
Enfermedades respiratorias (garganta, gripa, resfriado, asma, bronquitis).	15	18	26	0	15
Enfermedades gastrointestinales (diarreas, dolor de estómago, gastritis).	7.3	3	2.3	0	3
Alergias, granos, ronchas, ardor, comezón, dermatitis.	15	0	26	0	10
Problemas de aprendizaje y memoria	2.4	0	2.3	0	1.2
Alteraciones del sistema nervioso (nerviosismo, hiperactividad, pesadillas).	2.4	3	4.6	0	2.5
Hipertensión, padecimiento del corazón y riñón	2.4	12	9.2	5.9	7.4
Malformaciones físicas (riñón, pie incompleto, labio leporino).	2.4	3	0	5.9	3
Dolor de cabeza, migraña	2.4	3	0	5.9	3
Quistes ováricos y fibromas	2.4	3	4.6	0	2.5
Enfermedad mental, síndrome de Down	4.9	0	0	0	1.2
Padecimientos de la tiroides (hipotiroidismo)	0	6	0	0	1.5
Otros ³	4.8	6	11.6	18	10

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades en México. ¹ Localidades cercanas a basureras municipales: Milpillas San Luis Potosí; Zona conurbana a la ciudad de Chihuahua; y San Juan Tilapa Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio San Luis Potosí. n = número de muestras. ZC = zona conurbana. ³ Otros = hernia, convulsiones, paro respiratorio, próstata, vesícula, meningitis, hepatitis, cataratas.

Tabla 5. Hábitos alimenticios de los niños participantes

	Milpillas ¹ S.L.P. (n = 64)	El Refugio ² S.L.P. (n = 47)	Ciudad de Chihuahua (ZC) ¹ Chihuahua (n = 28)	San Juan Tilapa ¹ Edo. de México (n = 43)	Total (n = 182)
			%		
Leche de vaca	77	85	89	88	85
Carnes rojas y pollo	89	89	100	100	95
Pescados y mariscos	27	47	75	93	61
Atún	78	85	86	95	86
Huevo	86	91	96	100	93
Otros³	81	89	96	100	92

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades en México. ¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpilllas San Luis Potosí; Zona conurbana a la ciudad de Chihuahua; y San Juan Tilapa Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio San Luis Potosí. n = número de muestras. ZC = zona conurbana. ³ Otros = yogurt, queso, crema, aceite de pescado y otros alimentos de origen animal.

Tabla 6. Actividades extraescolares de los niños participantes

	Milpillas ¹	El Refugio ²	Ciudad de Chihuahua (ZC) ¹	San Juan Tilapa ¹	Total
	S.L.P. (n = 64)	S.L.P. (n = 47)	Chihuahua (n = 28)	Edo. de México (n = 43)	(n = 182)
Juega con videojuegos	11	38	36	4.7	22
hr/sem			%		
≤ 1	6.3	6.4	18	0	8
1.1 - 5	1.6	13	14	0	7
5 ≤	0	11	0	2.3	3
Televisión (hr/sem)					
≤ 2	17	11	7	21	14
2.1 - 7	50	53	29	58	48
7.1 ≤	9	21	57	21	27
Clases de computación (hr/sem)					
0.5	0	0	0	2.3	0.6
1	0	45	11	4.7	15
2	0	41	0	0	10
Juega en					
Tierra	55	66	86	49	64
Pasto	0	8.5	29	12	12
Cemento	19	21	32	26	24
Cerca de coches	0	4.3	11	0	4
Cancha de fútbol	1.6	13	3.6	0	4.6
Parcela	14	8.5	0	9.3	8
Basurero	6.3	0	0	0	1.6
Ayuda a los padres en:	69	53	39	16	48
Actividades del hogar	28	30	14	0	18
En la parcela	12	0	0	2.3	3.6
A elaborar ladrillos	3.1	0	0	0	0.8
A recolectar o pepenar basura	30	0	0	0	7
Otras ³	9.4	17	7.1	2.3	7

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades en México. ¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillás San Luis Potosí; Zona conurbana a la ciudad de Chihuahua; y San Juan Tilapa Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio San Luis Potosí. n = número de muestras. ZC = zona conurbana.

³ Otras = Ayuda con los animales, en el negocio, a lavar el carro, a acarrear materiales.

Tabla 7. Fuentes cercanas a las casas de los niños participantes y uso de aparatos electrónicos

	Milpillas ¹ S.L.P. (n = 64)	El Refugio ² S.L.P. (n = 47)	Ciudad de Chihuahua (ZC) ¹ Chihuahua (n = 28)	San Juan Tilapa ¹ Edo. de México (n = 43)	Total (n = 182)
Fuentes			%		
Basureros	83	0	61	9.3	38
Fábricas	19	6.4	32	7	16
Parcelas	28	43	50	35	39
Ladrilleras	9.4	4.3	0	0	3.4
Aguas negras	0	0	50	2.3	13
Huertas/granjas y otros	4.7	23	11	9.3	12
Aparatos electrónicos					
Televisión	77	87	100	100	91
Radio	73	74	93	63	83
Estereo	19	51	54	49	43
Computadora	3.1	4.3	32	9.3	12
Teléfono celular	34	40	86	16	44
Videojuego	9.4	26	25	7	17
Otros juguetes electrónicos	6.2	15	11	2.3	9
Otros electrónicos	11	0	18	0	7

Estudio realizado para evaluar la exposición a PBDEs en niños de cuatro localidades en México. ¹ Localidades cercanas a basureros municipales: Milpillas San Luis Potosí; Zona conurbana a la ciudad de Chihuahua; y San Juan Tilapa Estado de México. ² Localidad agrícola: El Refugio San Luis Potosí. n = número de muestras. ZC = zona conurbana.

Tabla 8. Información de la escuela primaria "Emiliano Zapata" de la localidad de El Refugio, San Luis Potosí

1. Nombre de la escuela:	Primaria "EMILIANO ZAPATA", 24 DPR 1882 F	
2. Dirección:	Calle Constitución 201, Plaza Principal, El Refugio, Cd. Fernández, S.L.P.	
3. Teléfono:	01 487 8720725	
4. Nombre del Responsable:	Profr. Adolfo Pecina Quintero	
5. Turnos:	Matutino	
6. Horario de clases:	De 8:00 a 13:00 Hrs.	
7. Número de niños en:		
	Primero:	79
	Segundo:	84
	Tercero:	70
	Cuarto:	65
	Quinto:	61
	Sexto:	63
8. Duración y horario del recreo o descanso:	Er recreo dura 30 min, de las 11:00 a las 11:30 hrs.	
9. Horas clases a la semana de educación física:	En total 22 horas clase	
10. La escuela cuenta con sala de computación:		Si
11. Número de computadoras en la sala de computo:		16
12. Horas clase a la semana de computación:	Una hora por grupo	
13. Se les proporciona desayuno escolar a los niños:		No
14. Los niños reciben ayuda de un programa social:		Si
14.1. En que consiste la ayuda:	Apoyos educativos en económico, atención básica a la salud familiar, apoyo para mejorar consumo alimenticio	
14.2. Cuantos niños reciben la ayuda:	Hasta el momento 38, pero se van a incorporar 8 más	
14.3. Que niños reciben la ayuda:	Los que fueron seleccionados por ser familias que viven en condiciones precarias.	
15. Las calles alrededor de las escuela se encuentran:	Pavimentadas	
16. Cerca de la escuela existen:		
	Basureros:	No
	Fábricas:	No
	Parcelas:	Si (a 1 Km)
Otro(s):	Si (a 1 Km, ladrilleras que queman leña y aceite; a 1 Km incubadora de pollos Pilgrim)	
17. De que materiales esta construida la escuela:		
	Paredes:	Adobe y ladrillo
	Techo:	Cemento
	Piso:	Cemento
	Ventanas:	Hierro y vidrio
18. La escuela cuenta con servicio de:		
	Agua potable:	Si
	Drenaje:	Si
	Luz eléctrica:	Si
19. Con que frecuencia se realiza la limpieza de la escuela:		
	Barrer:	Diario
	Sacudir:	Diario
	Trapear:	Diario
	Aspirar:	

Tabla 9. Información de la escuela primaria "Jaime Nuno" de la localidad de El Refugio, San Luís Potosí

1. Nombre de la escuela:	Primaria "JAIME NUNO"	
2. Dirección:		
3. Teléfono:	01 487 8720049	
4. Nombre del Responsable:		
5. Turnos:	Matutino	
6. Horario de clases:		
7. Número de niños en:		
	Primero:	92
	Segundo:	75
	Tercero:	64
	Cuarto:	60
	Quinto:	68
	Sexto:	68
8. Duración y horario del recreo o descanso:	Er recreo dura 30 min, de las 11:00 a las 11:30 hrs.	
9. Horas clases a la semana de educación física:	1 hora con 40 minutos	
10. La escuela cuenta con sala de computación:	Si	
11. Número de computadoras en la sala de computo:	10	
12. Horas clase a la semana de computación:	2 horas	
13. Se les proporciona desayuno escolar a los niños:	No	
14. Los niños reciben ayuda de un programa social:	Si	
14.1. En que consiste la ayuda:	Beca	
14.2. Cuantos niños reciben la ayuda:		
14.3. Que niños reciben la ayuda:	Niños de tercero y sexto	
15. Las calles alrededor de las escuela se encuentran:	Pavimentadas	
16. Cerca de la escuela existen:		
	Basureros:	No
	Fábricas:	No
	Parcelas:	Si (a 3 Km)
Otro(s): Si (ladrilleras dentro de la población; a 1 Km incubadora de pollos Pilgrims Price)		
17. De que materiales esta construida la escuela:		
	Paredes:	Ladrillo
	Techo:	Cemento
	Piso:	Cemento
	Ventanas:	
18. La escuela cuenta con servicio de:		
	Agua potable:	Si
	Drenaje:	Si
	Luz eléctrica:	Si
19. Con que frecuencia se realiza la limpieza de la escuela:		
	Barrer:	Diario
	Sacudir:	Casa tercer dia
	Trapear:	Diario
	Aspirar:	

Tabla 10. Información de la escuela primaria “Benito Juárez” de la localidad de El Refugio, San Luís Potosí

1. Nombre de la escuela:	Primaria "BENITO JUAREZ"	
2. Dirección:	Av. Escontria No. 307, El Refugio, Cd. Fernández	
3. Teléfono:	01 487 8711110	
4. Nombre del Responsable:	Joaquin Torres Rojas	
5. Turnos:	Matutino	
6. Horario de clases:	De 8:00 a 13:00 Hrs.	
7. Número de niños en:		
	Primero:	60
	Segundo:	52
	Tercero:	61
	Cuarto:	68
	Quinto:	58
	Sexto:	53
8. Duración y horario del recreo o descanso:	Er recreo dura 30 min, de las 10:30 a las 11:00 hrs.	
9. Horas clases a la semana de educación física:	2 horas	
10. La escuela cuenta con sala de computación:		Si
11. Número de computadoras en la sala de computo:		15
12. Horas clase a la semana de computación:		2 horas
13. Se les proporciona desayuno escolar a los niños:		No
14. Los niños reciben ayuda de un programa social:		Si
14.1. En que consiste la ayuda:	Despensa Atención médica Estimulos económicos	
14.2. Cuantos niños reciben la ayuda:	83 niños	
14.3. Que niños reciben la ayuda:		
15. Las calles alrededor de las escuela se encuentran:	Pavimentadas	
16. Cerca de la escuela existen:		
	Basureros:	No
	Fábricas:	No
	Parcelas:	Si (a 1 Km)
	Otro(s):	
17. De que materiales esta construida la escuela:		
	Paredes:	Ladrillo y cemento
	Techo:	Cemento y lámina
	Piso:	Cemento y mosaico
	Ventanas:	
18. La escuela cuenta con servicio de:		
	Agua potable:	Si
	Drenaje:	Si
	Luz eléctrica:	Si
19. Con que frecuencia se realiza la limpieza de la escuela:		
	Barrer:	Diario
	Sacudir:	Diario
	Trapear:	Diario
	Aspirar:	

Tabla 11. Información de la escuela primaria "2 de Abril" localizada en una zona conurbana a la ciudad de Chihuahua, Chihuahua

1. Nombre de la escuela:	Primaria "2 DE ABRIL"	
2. Dirección:	Domicilio conocido, Rancho Guadalupe, Chihuahua, México	
3. Teléfono:	4928067	
4. Nombre del Responsable:	Profra. Rutila Eusebio Mejia	
5. Turnos:	Matutino	
6. Horario de clases:	De 8:00 a 12:30 Hrs.	
7. Número de niños en:		
	Primero:	34
	Segundo:	48
	Tercero:	30
	Cuarto:	28
	Quinto:	30
	Sexto:	28
8. Duración y horario del recreo o descanso:	30 min (de 10:30 a 11:00 hrs.)	
9. Horas clases a la semana de educación física:	1 hora con 40 minutos	
10. La escuela cuenta con sala de computación:	No	
11. Número de computadoras en la sala de computo:	1 computadora en quinto y otra en sexto	
12. Horas clase a la semana de computación:		
13. Se les proporciona desayuno escolar a los niños:	Si	
13.1 Cuantos niños reciben desayuno escolar:	63	
14. Los niños reciben ayuda de un programa social:	Si	
14.1 En que consiste la ayuda:	Visita al doctor para revisión, ayuda económica	
14.2 Cuantos niños reciben la ayuda:	Aproximadamente 18	
15. Las calles alrededor de las escuela se encuentran:	Sin pavimentar	
16. Cerca de la escuela existen:		
	Basureros:	Si (a 5 km aproximadamente)
	Fábricas:	No
	Parcelas:	Si (a 2 km)
	Otro(s):	Si (Río Chuviscar - aguas negras).
17. De que materiales esta construida la escuela:		
	Paredes:	Adobe, cemento, block
	Techo:	Madera, cemento, lámina
	Piso:	Cemento
18. La escuela cuenta con servicio de:		
	Agua potable:	Si
	Drenaje:	Si
	Luz eléctrica:	Si
19. Con que frecuencia se realiza la limpieza de la escuela:	Depende de cada grupo, generalmente:	
	Barrer:	Diario
	Sacudir:	1 vez por semana
	Trapear:	Cada tercer día
	Aspirar:	

Tabla 12. Información de la escuela primaria “Benito Juárez” de la localidad de San Juan Tilapa, Edo. de México

1. Nombre de la escuela:	Primaria "BENITO JUAREZ"	
2. Dirección:	Ruiz Cortines S/N	
3. Teléfono:	2981274 o 2980265	
4. Nombre del Responsable:	Profra. Icela Berenice García González	
5. Turnos:	Matutino	
6. Horario de clases:	De 8:00 a 13:00 Hrs.	
7. Número de niños en:		
	Primero:	16
	Segundo:	10
	Tercero:	7
	Cuarto:	8
	Quinto:	5
	Sexto:	5
		62 niños de preescolar
8. Duración y horario del recreo o descanso:	30 min	
9. Horas clases a la semana de educación física:	1 hora	
10. La escuela cuenta con sala de computación:	No	
11. Número de computadoras en la sala de computo:	No tienen	
12. Horas clase a la semana de computación:	1 hora a la semana	
13. Se les proporciona desayuno escolar a los niños:	Si (DIF CONAFE)	
14. Los niños reciben ayuda de un programa social:	No	
15. Las calles alrededor de las escuela se encuentran:	Sin pavimentar	
16. Cerca de la escuela existen:		
	Basureros:	No
	Fábricas:	No
	Parcelas:	Si (a 10m)
	Otro(s):	No
17. De que materiales esta construida la escuela:		
	Paredes:	Ladrillo
	Techo:	Cemento
	Piso:	Cemento
18. La escuela cuenta con servicio de:		
	Agua potable:	No
	Drenaje:	No
	Luz eléctrica:	Si
19. Con que frecuencia se realiza la limpieza de la escuela:		
	Barrer:	Diario
	Sacudir:	Diario
	Trapear:	Diario
	Aspirar:	