

Acta
Toxicológica
Argentina

Publicación de la Asociación Toxicológica Argentina
Buenos Aires - Argentina



Asociación Toxicológica Argentina

Volumen 16
N° 2
Diciembre 2008

Acta Toxicológica Argentina es el órgano de difusión científica de la Asociación Toxicológica Argentina. Tiene por objetivo básico la publicación de trabajos originales, comunicaciones breves, actualizaciones o revisiones, temas de divulgación, comentarios bibliográficos, notas técnicas y cartas al editor. Asimismo, se publicarán noticias relacionadas con los diferentes campos de la Toxicología.



Asociación Toxicológica Argentina

Asociación civil (Personería Jurídica N° 331/90)

Adherida a la IUTOX

Acta Toxicológica Argentina

Asociación Toxicológica Argentina

Comisión Directiva

Presidente

Susana Isabel García

Vicepresidente

Gerardo D. Castro

Tesorero

Augusto Piazza

Secretaria

Noemí Verrengia Guerrero

Vocales

Ricardo Aristu

Mirtha Nassetta

Adolfo R. de Roodt

Vocales Suplentes

Daniel A. Méndez

Graciela Bovi Mitre

Gabriela Fiorenza

Comité Científico

Nelson Albiano

Teodoro Stadler

Marta Carballo

Ana Pechén de D'Angelo

Eduardo Baroni

Organo de Fizcalización

Patricia Quiroga

Daniel González

Eduardo Scarlato

Tribunal de Honor

Estela Gimenez

María Rosa Llorens

José A. Castro

Acta Toxicológica Argentina

Director

Ricardo Duffard *LATOEX, FBIOyF-UNR*

Comité de Redacción

Ofelia C. Acosta de Pérez *Fac. Ciencias Vet.-UNNE, CONICET*

Valentina Olmos *FFyB - UBA*

Adriana S. Ridolfi *FFyB - UBA*

Comité Editorial 2004

José A. Castro *CEITOX-CITEFA / CONICET - Argentina*

Antonio Colombi *Universidad de Milán - Italia*

Franz Delbeke *Universidad de Gante - Belgica*

Heraldo Donnewald *Poder Judicial de la Nación - Argentina*

Ana S. Fulginiti *Universidad de Córdoba - Argentina*

Nilda G. G. de Fernícola *CETESB - Brasil*

Veniero E. Gambaro *Universidad de Milán - Italia*

Carlos A. García *Instituto de Estudios Bioquímicos - Argentina*

Estela Gimenez *ANMAT - Argentina*

Hector Godoy *INTA / CIC - Pcia. de Bs. As. - Argentina*

Amalia Laborde *Universidad de la República - Uruguay*

Nelly Mañay *Universidad de la República - Uruguay*

Carlos Reale *Univ. Nacional del Sur - Argentina*

Felix G. Reyes *Universidad de Campinas - Brasil*

Irma Rosas Pérez *Univ. Autónoma de México - México*

Marta Salseduc *Lab. Bagó. Univ. Austral - Argentina*

Roberto Tapia Zuñiga *Chile*

Enrique Tourón *Argentina*

Norma Vallejo *Universidad de Bs. As. - Argentina*

Eduardo Zerba *CIPEIN - CITEFA / CONICET - Argentina*

INDICE

(CONTENTS)

ENVENENAMIENTO POR MÚLTIPLES PICADURAS DE ABEJAS Y CHOQUE ANAFILÁCTICO SECUNDARIO: DESCRIPCIÓN DE UN CASO CLÍNICO Y REVISIÓN DE LA LITERATURA <i>MULTIPLE BEES STINGS POISONING AND SECONDARY ANAPHYLACTIC SHOCK: A CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW</i> <i>Contreras Zuniga, Eduardo; Zuluaga, Sandra Ximena; Casas Quiroga, Isabel Cristina</i>	27
EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA ORAL E IRRITACIÓN SOBRE MUCOSA BUCAL DE LA SOLUCIÓN CM-95 TRATADA MAGNÉTICAMENTE <i>ORAL ACUTE TOXICITY AND IRRITATION ON BUCCAL MUCOSA EVALUATION OF THE CM-95 SOLUTION MAGNETICALLY TREATED</i> <i>Díaz Bestard, Jorge; Martínez Manrique, Clara Esther; Alfonso Castillo, Alfredo; Pardo Terga, Ana Maria; Esmérito Betancourt, Juan; Salas Martínez, Hilario; Puente Zapata, Edgar; Sedeño Soularit, Narvis</i>	34
EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN AMBIENTAL A PLAGUICIDAS ORGÁNICOS PERSISTENTES EN DOS BARRIOS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA <i>ASSESSMENT OF ENVIRONMENTAL EXPOSURE TO PERSISTENT ORGANIC PESTICIDES IN TWO NEIGHBORHOODS OF THE PROVINCE OF CÓRDOBA</i> <i>Lucero, Patricia; Nassetta, Mirtha; De Romedi, Adriana.....</i>	41
ERRATA.....	47
ADENDA.....	48
AGRADECIMIENTO A LOS REVISORES 2006-2008.....	49
ÍNDICE DE AUTORES 2005-2007	50
ÍNDICE DE TEMAS 2005-2007.....	52
INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES.....	54

Los resúmenes de los artículos publicados en Acta Toxicológica Argentina se pueden consultar en la base de datos LILACS, en la dirección literatura científica del sitio www.bireme.br

Acta Toxicológica Argentina está indexada en el Chemical Abstracts. La abreviatura establecida por dicha publicación para esta revista es Acta Toxicol. Argent.

Calificada como Publicación Científica Nivel 1 por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT), en el marco del Proyecto Latindex

ENVENENAMIENTO POR MÚLTIPLES PICADURAS DE ABEJAS Y CHOQUE ANAFILÁCTICO SECUNDARIO: DESCRIPCIÓN DE UN CASO CLÍNICO Y REVISIÓN DE LA LITERATURA

Contreras Zuniga, Eduardo¹; Zuluaga, Sandra Ximena²; Casas Quiroga, Isabel Cristina³

1. Universidad del Valle. Fundación Valle del Lili. Cali. Colombia.
2. 10 Enfermería de Santa Casa de la Misericordia de Río de Janeiro, Brasil.
3. Unidad de Cuidados Intensivos Clínica Farallones. Cali. Colombia.

Resumen: ENVENENAMIENTO POR MÚLTIPLES PICADURAS DE ABEJAS Y CHOQUE ANAFILÁCTICO SECUNDARIO: DESCRIPCIÓN DE UN CASO CLÍNICO Y REVISIÓN DE LA LITERATURA. Eduardo Contreras Zuniga, Sandra Ximena Zuluaga, Isabel Cristina Casas Quiroga. *Acta Toxicol. Argent. (2008) 16 (2): 27-32.* Menos del 5% de las 20.000 especies estimadas de abejas son sociales y, por lo tanto, pueden producirse ataques masivos o generarse situaciones de riesgo al enjambrear o construir panales cerca o en el interior de domicilios. El veneno de abejas está constituido por una mezcla de sustancias con proteínas, siendo las principales enzimas, péptidos y aminas biogénicas. Estas proteínas poseen acciones farmacológicas y alergénicas capaces de provocar cuadros de envenenamiento en el humano y en animales. Se describe el caso clínico de un agricultor que sufrió picaduras por más de 500 abejas con desenlace fatal. Además, se realiza una breve revisión de la literatura sobre el tema.

Palabras clave: Hipotensión; Choque anafiláctico; Choque distributivo; Envenenamiento por abejas.

Abstract: MULTIPLE BEES STINGS POISONING AND SECONDARY ANAPHYLACTIC SHOCK: A CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW. Eduardo Contreras Zuniga, Sandra Ximena Zuluaga, Isabel Cristina Casas Quiroga. *Acta Toxicol. Argent. (2008) 16 (2): 27-32.* Less than 5% of the estimated 20,000 species of bees are social, and therefore massive attacks might occur or situations of risk could be generated when swarming to build hives near or inside homes. Bee venom consists of a mixture of substances, mainly protein enzymes, peptides and biogenic amines, these proteins have pharmacological actions and allergens can induce boxes poisoning in humans and animals. We describe the case of a farmer who suffered more than 500 stings by bees with a fatal outcome. In addition, a brief review of the literature is presented.

Keywords: Hypotension, Anaphylactic shock, Distributive shock; Poisoning bees.

DESCRIPCIÓN DEL CASO

Paciente de 66 años, masculino, de raza mestiza, con antecedente de hipertensión arterial, medicado con enalapril 40 mg al día. El paciente laboraba como leñador y, mientras se encontraba talando un árbol, sufrió picaduras por enjambre de abejas (>500 abejas), las cuales tenían su colmena en dicho árbol. Inmediatamente es socorrido por sus compañeros quienes lo sumergieron en una laguna cercana. El paciente comenzó con dificultad respiratoria por lo cual fue trasladado a un centro asistencial. Ingresó en regulares condiciones generales, tensión arterial (TA) 75/50 mmHg, frecuencia cardíaca (FC) 97 l.p.m., frecuencia respiratoria (FR) 28 r.p.m., con agitación psicomotora, dificultad respiratoria marcada y rash cutáneo generalizado, observándose la impronta de innumerables picaduras (> 500) (Figura 1). De inmediato se inició suplemento de oxígeno con una FI_{O_2} de 40%, administrándose

1.500 ml de líquidos endovenosos en bolo, hidrocortisona 200 mg endovenosa (ev), ranitidina 50 mg (ev) y clemastina 10 mg (ev). Adicionalmente, se extrajeron por raspado, aproximadamente 350 aguijones de abeja localizados en todo el cuerpo, principalmente cara y torso.

El paciente tuvo pobre respuesta a la terapia instaurada con presencia de hipotensión arterial refractaria a líquidos endovenosos (choque anafiláctico), y empeoramiento de la dificultad respiratoria, por lo que fue necesario realizar intubación orotraqueal e iniciar soporte vasoactivo con adrenalina, trasladándolo a la Unidad de Cuidados Intensivos donde evolucionó con deterioro clínico por falla multiorgánica.

Laboratorio de ingreso: creatinina 2,86 mg/dl, pH 7,14, PCO_2 32 mmHg, PaO_2 176 mmHg, HCO_3^- 11 mEq/l, Na^+ 144 mmol/l, K^+ 4,8 mmol/l, Cl^- 96 mmol/l, leucocitos 12.300 por mm^3 , neutrófilos 76%, linfocitos 13%, hemoglobina 11,9 g/dl, hematocrito 32%,

plaquetas 187.000 por mm³, aspartato amino transferasa (AST) 16 U/L, alanina aminotransferasa (ALT) 18 U/L, fosfatasa alcalina 312 U/L, ácido láctico 5,3 mg/dl, glicemia 112 mg/dl, creatín fosfocinasa (CPK) total 16.600 U/L, deshidrogenasa láctica (DHL) 673 U/L, rango internacional normatizado (RIN) 1,07, tiempo de tromboplastina parcial activado (PTT) 26 segundos, uroanálisis: esterases leucocitarias negativas, nitritos negativos, leucocitos 0 a 3 por campo, hematíes dimórficos 30 a 40 por campo, bacterias escasas.

El paciente evolucionó con mayor requerimiento de líquidos endovenosos y medicación vasoactiva, con disminución progresiva del gasto urinario, con incremento de la creatinina hasta llegar a la anuria, hemodinámicamente inestable, con deterioro progresivo de los parámetros ventilatorios. No hubo respuesta al tratamiento instaurado. Finalmente, falleció 36 horas posteriores al ingreso.

DISCUSIÓN

La muerte posterior a múltiples picaduras de abejas puede ser desencadenada por dos mecanismos principales: la anafilaxia y el envenenamiento. El primer caso se da cuando el sujeto picado es hipersensible al veneno de abeja, y el segundo cuando se producen picaduras masivas, las que suelen darse usualmente en trabajadores de apiarrios o por el ataque de enjambres de abejas africanizadas a la población en general (1).



Figura 1. Lesiones por picadura de Himenópteros (abejas).

Choque anafiláctico

Introducción

Las reacciones anafilácticas fueron descritas por primera vez en el año 1902 por Portier y Richet cuando trabajaban con perros para producir anticuerpos contra el veneno de anémonas marinas. Este grupo de investigadores ganó el premio Nobel de Medicina y Fisiología en 1913 por ser los pioneros en este tipo de investigaciones (1,2).

Los signos y síntomas del shock anafiláctico pueden dividirse en cuatro categorías: reacciones mucocutáneas, respiratorias, cardiovasculares y gastrointestinales (*Tabla 1*). Los pacientes que presentan reacciones que van mas allá de las manifestaciones mucocutáneas se consideran con compromiso severo; desafortunadamente en algunos pacientes pueden presentarse reacciones cardiovasculares y/o respiratorias antes de que se presenten las manifestaciones cutáneas (3).

Epidemiología

El shock anafiláctico no se considera un evento que deba ser reportado a las autoridades de salud, por lo tanto no existen estadísticas nacionales que permitan establecer la incidencia y prevalencia de este cuadro clínico en nuestro país. Esto, sumado a la ausencia de claridad del personal de salud para realizar un diagnóstico preciso, dificulta la recolección de datos que permitan establecer la frecuencia y severidad de las reacciones anafilácticas; además de ello, muchos de los pacientes presentan reacciones menores y nunca consultan a los servicios de salud por lo tanto existe un sub-registro importante respecto a la incidencia del shock anafiláctico (2,3).

Fisiopatología

Las reacciones anafilácticas y el shock anafiláctico resultan como consecuencia de la liberación de mediadores inflamatorios (histamina, triptasa, citoquinas), así como de moléculas derivadas del metabolismo del ácido araquidónico (prostaglandinas y leucotrienos) (4).

Las reacciones anafilácticas ocurren después de una nueva exposición a un antígeno para el que un individuo ha producido un anticuerpo IgE específico. Se cree que

Tabla 1. Clasificación de las reacciones anafilácticas

SISTEMA COMPROMETIDO	SIGNOS Y SÍNTOMAS
Mucocutáneo	<ul style="list-style-type: none"> • Urticaria • Angioedema • Prurito • Enrojecimiento • Conjuntivitis
Respiratorio	<ul style="list-style-type: none"> • Disnea • Laringoespasma • Estridor • Usibilancias • Rinorrea • Tos
Cardiovasculares	<ul style="list-style-type: none"> • Hipotensión • Vasodilatación con hipovolemia secundaria • Aumento de la permeabilidad capilar que lleva a pérdida de volumen intravascular • Taquicardia • Bradicardia • Dolor torácico • Sincope
Gastrointestinales	<ul style="list-style-type: none"> • Náusea • Vómito • Disfagia • Diarrea • Urticaria • Cólicos abdominales

la histamina es el primer mediador de la cascada inflamatoria en el shock anafiláctico. La mayoría de los signos y síntomas en las reacciones anafilácticas se atribuyen a la unión de la histamina con sus receptores (5,6).

Por otro lado, la estimulación de los receptores H₁ se asocia con la producción de prurito, rinorrea, taquicardia y broncoespasmo y la estimulación de los receptores H₂ participa en la aparición de cefalea, edema e hipotensión (4).

Diagnóstico

El diagnóstico del shock anafiláctico en el evento agudo es, sin duda, completamente clínico y se debe iniciar con una historia clínica breve y dirigida, ya que el tratamiento debe ser administrado de manera inmediata (5).

La historia clínica debe incluir un interrogatorio orientado a identificar episodios previos de atopia o anafilaxis e ingesta de alimentos especiales, nuevos medicamentos y/o picaduras y mordeduras de insectos.

El diagnóstico preciso de shock anafiláctico resulta en ocasiones confuso debido a la variedad de presentaciones clínicas del mismo, además de la existencia de otras condiciones clínicas que se asemejan al cuadro anafiláctico como son los eventos vasovagales, mastocitosis, arritmias cardíacas, envenenamiento por mordedura de serpiente, ataques de pánico y convulsiones (7-9).

La evaluación debe enfocarse hacia la identificación de manifestaciones que pongan en riesgo la vida del paciente, esto incluye la evaluación del estado respiratorio y cardiovascular prestando especial atención a los signos y síntomas que sugieran compromiso de la vía aérea para prevenir el colapso cardiovascular y el paro cardiorespiratorio (7).

El tiempo transcurrido una vez que el paciente se expone al alérgeno también es importante, ya que las reacciones anafilácticas usualmente ocurren minutos después de la exposición al agente disparador. En el shock anafiláctico inducido por

alimentos puede presentarse un lapso de tiempo de 4 a 6 horas entre la ingesta y la aparición de los síntomas, el cual se atribuye al proceso de digestión del elemento alergénico (10).

Las personas con antecedentes de enfermedad asmática pueden estar más expuestas a desarrollar reacciones anafilácticas, sin embargo, el asma no es reconocida como un factor predisponente del shock anafiláctico, aunque sí puede ser un elemento predictor de la severidad del cuadro clínico.

Existen dos pruebas de laboratorio: la trip-tasa sérica y la N-metilhistamina urinaria que son útiles en la confirmación de la reacción anafiláctica; estos tests deben ser realizados a los pocos minutos de haberse iniciado la reacción alérgica para que sean de utilidad clínica; sin embargo, es importante recordar que, en vista de la severidad del cuadro clínico y de los riesgos potenciales para la vida del paciente, el diagnóstico debe ser clínico y en los primeros minutos de manejo del paciente debe prevalecer la estabilización respiratoria y cardiovascular frente a la toma de muestras para exámenes de laboratorio (11,12).

Tratamiento

Una vez que se sospecha que el paciente presenta una reacción anafiláctica es necesario administrar de manera inmediata adrenalina. No existen contraindicaciones absolutas para utilizar adrenalina en el contexto del shock anafiláctico y la demora en la administración de ella genera complicaciones en el manejo del paciente (8).

En adultos la dosis indicada de adrenalina vía intramuscular es de 0,3 a 0,5 ml de una solución de 1:1000, es decir, 0,3 a 0,5 mg de la misma dilución. Algunos autores mencionan la utilización de dosis de 0,1 ml vía endovenosa de una solución de 1:1000 de adrenalina para el manejo de pacientes con hipotensión o para aquellos que hayan sido refractarios al medicamento intramuscular, sin embargo, la administración de medicamento endovenoso se ha relacionado con mayores efectos secundarios y sólo debe considerarse en un paciente con un compromiso sistémico severo (12,13).

Ya que el shock anafiláctico puede generar un colapso cardiovascular, es importante

que el equipo de salud esté atento y preparado ante cualquier signo de deterioro que requiera apoyo vital, por lo tanto una evaluación inicial y re-evaluaciones posteriores con énfasis en el ABC (vía aérea, ventilación, circulación) son fundamentales (13).

Medicamentos coadyuvantes

- Antihistamínicos: se administran por vía endovenosa o intramuscular (2,3).
- Bloqueadores H₂: buscando un bloqueo dual de los receptores de histamina (1,4).
- β_2 agonistas: la administración de β_2 agonistas es benéfica para los pacientes que cursan con obstrucción severa de la vía aérea inferior; en los pacientes medicados con β -bloqueadores se recomienda la utilización del bromuro de ipratropio (4,5).
- Esteroides: buscando un efecto inmunosupresor, pero su acción no aparece hasta transcurridas 4 a 6 horas posteriores a su administración.
- Vasopresina: para el manejo de la hipotensión severa, hasta el momento la evidencia que la soporta se base solamente en reporte de casos anecdóticos (8,10).
- Atropina: para el manejo de pacientes con bradicardia sintomática (escasa evidencia de su utilización hasta el momento) (11).

Envenenamiento por abejas

Es causado por la acción de los componentes tóxicos del veneno per se cuando se produce la inoculación masiva, al recibir el sujeto cientos de picaduras, por lo que no es necesario que medie una sensibilización previa. Este tipo de accidente puede verse en los casos de los ataques de enjambres. El cuadro de envenenamiento comienza como una intoxicación histamínica sistémica (por su liberación inducida directamente por la melitina) y con cuadros de hemólisis que provocan anemia e ictericia. Hay rabdomiólisis con mialgias generalizadas, taquicardia, cefalea, náuseas o vómitos, cólico abdominal, elevación de CPK, DHL, aldolasa y AST. Pueden presentarse trastornos neurológicos con agitación psicomotora, convulsiones y coma, broncoespasmo, edema

pulmonar e insuficiencia renal aguda. Otras alteraciones menos frecuentes incluyen necrosis hepática, trombocitopenia, lesiones miocárdicas, coagulopatías y arritmias cardíacas (9,14,17).

Se ha descrito la presencia de hemólisis y rabdomiólisis. Estos dos fenómenos serían las principales causas de las lesiones renales provocadas por el veneno debido a que tanto la hemoglobina como la mioglobina pueden precipitar en los túbulos renales y llevar hasta insuficiencia renal aguda, una de las complicaciones más severas de este tipo de envenenamiento (15,16).

Las lesiones renales pueden ser causadas también por la acción tóxica directa o por otros mecanismos indirectos, provocados por el veneno, que disminuye la perfusión renal, produce alteraciones cardiovasculares o coagulación intravascular diseminada. En el envenenamiento pueden observarse alteraciones en el funcionamiento renal como disminución de la filtración glomerular y aumento de la creatinemia y de la excreción de Na^+ y K^+ sugiriendo lesiones en la porción proximal del riñón (9,16,18).

Teóricamente, los más expuestos a accidentes son los trabajadores de apiarios, para quienes se puede estimar el riesgo a reacciones alérgicas mediante pruebas de hipersensibilidad. Sin embargo, los accidentes graves pueden sucederle a cualquier persona debido a las características alergénicas del veneno, que en un sujeto sensibilizado previamente, pueden provocar un colapso anafiláctico, aún cuando la reacción a la primera picadura haya sido normal. Los venenos de Himenópteros tienen los componentes más alergénicos entre los venenos de animales y son los animales venenosos que mayor cantidad de fenómenos alérgicos producen (17,19).

En relación a los ataques masivos, con la presencia de enjambres de abejas africanizadas, estos pueden suceder en lugares inesperados a cualquier individuo. Dada la persistencia en tiempo y espacio de la irritabilidad de estas abejas, la perturbación próxima al panal o enjambre puede no tener relación causal con el atacado (20).

Una vez iniciado el ataque, éste puede concentrarse en una o unas pocas víctimas probablemente por características fenotípicas y fisiológicas. La dosis de ve-

veno así recibida, a su vez, se incrementa a medida que la feromona de alarma liberada por los agujones insertos en la piel excita a nuevas abejas que pican al mismo individuo. Aunque, en general, con el tratamiento médico se resuelven la mayoría de los accidentes, en los casos de envenenamiento grave la terapéutica se torna mucho más complicada (9,11). En el caso del paciente presentado se consideró que los signos y síntomas que presentó fueron secundarios a un envenenamiento por abejas, causado por el gran número de picaduras que recibió, asociado a un choque anafiláctico. A pesar que el manejo terapéutico fue adecuado, de acuerdo a las guías actuales para tratamiento de picaduras de abejas múltiples y manejo del choque anafiláctico, desarrolló falla orgánica múltiple (compromiso respiratorio, cardíaco, neurológico y renal) con desenlace fatal (18,19).

CONCLUSIÓN

Tanto el shock anafiláctico como el envenenamiento por múltiples picaduras de abejas son dos situaciones críticas que comparten algunos mecanismos fisiopatológicos. Son entidades con una morbimortalidad importante. El manejo óptimo y oportuno son fundamentales en el pronóstico de estos pacientes teniendo gran importancia el manejo de la hipoperfusión y de la vía aérea.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Johnson, R.F.; Stokes Peebles Jr., R. (2006). Anaphylactic Shock: Pathophysiology, Recognition and Treatment. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 25, 817 – 826.
2. Kemp, S.F.; Lockey, R.F. (2007). Anaphylaxis: a review of causes and mechanism. *J Allergy Clin Immunol*. 110, 341-348.
3. American Heart Association (AHA). (2005). Guidelines for cardio pulmonary resuscitation and electrocardiogram. Part 10.6 Anaphylaxis. *Circulation*. 112, IV-156- IV-166.
4. Joint Task Force on Practice Parameters. (2008). The diagnosis and management of

anaphylaxis. *J Allergy Clin Immun.* 101, S465-S527.

5. Kemp, S.F. (2001). Current concepts in pathophysiology, diagnosis and management of anaphylaxis. *Immun Allergy Clin North Am.* 21, 611-634.

6. Pumphrey, R.S.H. (2008). Lessons for management of anaphylaxis from a study of fatal reactions. *Clin Exp Allergy.* 30, 1144-1150.

7. Dykewickz, M.S. (2002). Anaphylaxis and inflammation. *Clin Allergy Immun.* 346,1320-1322.

8. Rusznak, C.; Peebles, R.S. (2002). Anaphylaxis. *Postgrad Med.* 111,101-114.

9. Valencia, M.P.; Sanchez, J.A.; Sanchez, M.A. (2007). Allergy and neurotoxicity induced by bee sting. Case report and literature review. *Rev Alerg Mex.* 54(5), 177-85.

10. Pumphrey, R. (2004). Anaphylaxis: can we tell who is at risk of a fatal reaction? *Curr Opin Allergy Clin Immun.* 4, 285-290.

11. Brown, S.G.; Blackman, K.E.; Stenlake, K.E. (2004). Insect sting anaphylaxis; prospective evaluation of treatment with intravenous adrenaline and volume resuscitation. *Emerg Med.* 21, 149-154.

12. Kemp, S.F. (2006). Current concepts in pathophysiology, diagnosis and management of anaphylaxis. *Immun Allergy Clin North Am.* 21, 611-634.

13. Muller, U.R. (2007). Cardiovascular disease and anaphylaxis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 7(4), 337-41.

14. Guzman, M.A.; Salinas, L.; Troche, E. (2007). Immunotherapy against hymenoptera venom: report of ten patients. *Rev Med Chil.* 135(12), 1566-71.

15. Obasi, K.; Obasi, O. (2008). Prevalence and alternative therapy methods for bee and wasp allergy in Van. *Allergy.* 63(2), 246-7.

16. Roesch, A.; Babilas, P. (2008). Outcome survey of insect venom allergic patients with venom immunotherapy in a rural population. *J Dtsch Dermatol Ges.* 6(4), 292-7.

17. Bilo, B.M. (2007). Advances in hymenoptera venom immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 7(6), 567-73.

18. Flood, A.A. (2006). Hymenoptera stings. *Clin Tech Small Anim Pract.* 21(4), 194-204.

19. Taylor, R. (2006). Revenge of the hymenoptera. *Lancet.* 368(9532), 272.

20. Pramanik, S. (2007). Wasp stings with multisystem dysfunction. *Indian Pediatr.* 44(10), 788-90.

www.bago.com

Cuidados Intensivos

En Laboratorios Bagó trabajamos intensamente en la investigación y desarrollo de medicamentos, aportando máxima calidad y efectividad terapéutica para la Argentina y el mundo.

1934 - 2009

75
Años

 **Bagó**

É T I C A A L S E R V I C I O D E L A S A L U D

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA ORAL E IRRITACIÓN SOBRE MUCOSA BUCAL DE LA SOLUCIÓN CM-95 TRATADA MAGNÉTICAMENTE

Díaz Bestard, Jorge¹; Martínez Manrique, Clara Esther²; Alfonso Castillo, Alfredo¹; Pardo Terga, Ana María³; Esmérito Betancourt, Juan¹; Salas Martínez, Hilario¹; Puente Zapata, Edgar; Sedeño Soularit, Narvis¹

1. Centro de Toxicología y Biomedicina. Departamento Toxicometría. Autopista Nacional Km. 1 1/2 Apdo. Postal 4033. CP 90 400. Santiago de Cuba. CUBA. Teléfonos: (53) 22-644095; 641000; 643864. Fax: (53) 22-687188.

2. Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado. Departamento de Bioelectromagnetismo. Universidad de Oriente. Avenida de Las Américas S/N. Santiago de Cuba. Cuba

3. Facultad de Ciencias Naturales. Departamento de Biología. Universidad de Oriente. Patricio Lubumba S/N. Carretera de Cu-abitas. Santiago de Cuba. Cuba

E-mail: jorge@toxi.scu.sld.cu, jorge790615@yahoo.com, jorge@medired.scu.sld.cu

Resumen: **EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA ORAL E IRRITACIÓN SOBRE MUCOSA BUCAL DE LA SOLUCIÓN CM-95 TRATADA MAGNÉTICAMENTE.** Jorge Díaz Bestard, Clara Esther Martínez Manrique, Alfredo Alfonso Castillo, Ana María Pardo Terga, Juan Esmérito Betancourt, Hilario Salas Martínez, Edgar Puente Zapata, Narvis Sedeño Soularit. *Acta Toxicol. Argent. (2008) 16(2): 34-40.* La Solución CM-95 tratada magnéticamente es un producto en desarrollo que mostró propiedades inmunoestimulantes en ensayos preclínicos, característica que la hacen adecuada como candidata a inmunopotenciador. En este trabajo se evaluaron los posibles efectos tóxicos preclínicos de la Solución CM-95 tratada magnéticamente, por el método de las Clases de Toxicidad Aguda y el de irritación de la mucosa oral, adaptando las normas OECD 423 y la ISO 10993-10, respectivamente. En el método de las Clases de Toxicidad Aguda se utilizó el ensayo límite, en ratas Sprague Dawley hembras, en el cual la dosis estuvo relacionada con el nivel de inducción magnética, en este caso 0,16 T, aplicado a la Solución CM-95; y el volumen a administrar de la misma, calculado sobre la base de 2 ml de la solución por 100 g de peso corporal. La determinación de la irritación de la mucosa oral se llevó a cabo en hámster Sirios Dorados hembras mediante un ensayo a dosis repetidas durante 7 días de tratamiento en la bolsa gular derecha, con pellet de algodón impregnado con 0,5 ml de la solución tratada magnéticamente con la misma inducción. No se encontró mortalidad ni evidencias de signos tóxicos para el ensayo de toxicidad aguda, y se obtuvo un índice de irritación sobre mucosa oral de 0, por lo que la sustancia estudiada se enmarcó como “No clasificada” y “No irritante” según la metodología empleada. Estos resultados complementarán otros estudios toxicológicos para avalar la seguridad de esta Solución para su uso futuro como fármaco por vía oral.

Palabras claves: Toxicidad aguda; CTA; Inmunopotenciador; Solución CM-95 tratada magnéticamente.

Abstract: **ORAL ACUTE TOXICITY AND IRRITATION ON BUCCAL MUCOSA EVALUATION OF THE CM-95 SOLUTION MAGNETICALLY TREATED.** Jorge Díaz Bestard, Clara Esther Martínez Manrique, Alfredo Alfonso Castillo, Ana María Pardo Terga, Juan Esmérito Betancourt, Hilario Salas Martínez, Edgar Puente Zapata, Narvis Sedeño Soularit. *Acta Toxicol. Argent. (2008) 16(2): 34-40.* CM-95 solution magnetically treated is a product which showed immunologic properties in preliminary tests, characteristic that makes it adequate as immunopotentiator candidate. In this study the possible preclinical toxic effects of CM-95 Solution magnetically treated were evaluated, by the Acute Toxicity Class method and oral mucosa irritation test, adapting guideline OECD 423 and ISO 10993-10. In Acute Toxicity Class method was used the Limit Test, in Sprague Dawley females rats, where the dose was related to the magnetic induction level, in this case 0.16 T, applied to CM-95 Solution; and the administration volume of aqueous solution was calculated on base 2 ml per 100 g body weight. Determination of oral mucosa irritation was carried out in female golden Syrian hamsters by means of a repeated doses test during 7 days of treatment in right gular bag, with a cotton pellet impregnated with 0.5 ml of CM-95 Solution magnetically treated with the same induction. Neither mortality nor evidences of toxic signs were observed for the test of acute toxicity, and an irritation index of 0 was obtained on oral mucosa irritation test, reason why the studied substance was framed as “not classified” and “non irritating” according to the applied methodology. These results will complement other toxicological studies to guarantee the safety of this Solution for its future use as a drug by oral route.

Key words: Acute toxicity; ACT; Immunopotentiator; CM-95 Solution magnetically treated.

INTRODUCCIÓN

Una sustancia inmunopotenciadora es aquella capaz de activar la respuesta inmune, lo cual permite su aplicación para la inmunoterapia de enfermedades congénitas o adquiridas que producen la depresión del sistema inmune. Entre éstas se incluyen, el SIDA, el cáncer o aquéllas producidas por medicamentos para el tratamiento de diversas patologías (1,2). No obstante, para el uso de estas sustancias como fármacos, es importante conocer su seguridad, ya que a pesar de su buena efectividad, en la mayoría de los casos los inmunopotenciadores en proceso de evaluación o ya como fármacos, muestran signos de toxicidad que limitan sus usos en humanos y animales (1).

La Solución CM-95 tratada magnéticamente (TM) es un fármaco en desarrollo que exhibe propiedades como activador del metabolismo celular. En este efecto se involucra la activación del sistema inmune a diferentes niveles, características que la hacen adecuada para su uso como fármaco inmunopotenciador (3). Sin embargo, han sido pobres los estudios toxicológicos para evaluar los efectos tóxicos de sistemas acuosos tratados magnéticamente como posibles fármacos. Los estudios toxicológicos de sistemas que reciben el campo magnético, han estado dirigidos fundamentalmente hacia los estudios epidemiológicos ocupacionales o residenciales sometidos a líneas de alta tensión u otras fuentes de energía electromagnética que pueden provocar daños al organismo vivo (3-5).

Aunque para los estudios de toxicidad en sistemas acuosos tratados magnéticamente no existe un consenso en las regulaciones internacionales, estos ensayos se adaptaron a las regulaciones de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) (6,7).

Los objetivos de este trabajo se centraron en la evaluación de los posibles efectos tóxicos preclínicos de la Solución CM-95 TM, por el método de las Clases de Toxicidad Aguda y el de irritación de la mucosa oral, debido a la gran importancia que reviste la obtención de un novedoso candidato inmunopotenciador, la escasez de información sobre sistemas acuosos tratados magnéticamente y la necesidad de evaluar su posible inocuidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Formulación

La Solución CM-95 es una sal inorgánica formada por los iones cloruro y sodio a una concentración entre 0,1-2 % en agua destilada (3). A la misma se le realizó un tratamiento magnético con una inducción magnética de 0,16 T (la mayor en el rango escogido para el tratamiento magnético de la solución) y a una velocidad de flujo entre 0,2-0,4 mt/s. Este tratamiento se realizó en un equipo a imanes permanentes, validado en el Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA), de Santiago de Cuba, Cuba, según las Normas de la Lake Shore de E.E U.U.

Biomodelos experimentales

Para el ensayo de toxicidad aguda oral por el método de las Clases, se emplearon ratas Sprague Dawley, hembras nulíparas y no grávidas, de 8 semanas de edad y un peso corporal de 155-160 g, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorios (CENPALAB, Habana); y a las cuales se les retiró el alimento a las 12 hs antes de la administración del producto para obtener condiciones de ayuno en los animales de experimentación. En el estudio de irritabilidad de la mucosa oral se emplearon hámster Dorados Sirios hembras nulíparas y no grávidas, de 3-4 semanas de edad con peso entre 50-60 g, suministrados por el CENPALAB.

Todos los animales se recibieron y pasaron a cuarentena por siete días antes de la administración, donde fueron examinados clínicamente por un especialista que certificó su estado de salud. Se pesaron e identificaron individualmente por perforación y muescas en las orejas (8) y se distribuyeron según tabla de aleatorización (9) en cajas de Makrolon modelo 1000, en condiciones convencionales. La instalación se mantuvo a temperatura controlada de 22 ± 3 °C, humedad relativa de 60 ± 10 %, y ciclo luz-oscuridad de 12/12 horas. La alimentación consistió en dieta standard para ratas y ratones CMO-1000 procedente del CENPALAB, y agua potable ad-libitum. Todos los ensayos fueron realizados de acuerdo a las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) (10).

Ensayo de toxicidad aguda oral

La metodología y el diseño experimental se llevaron a cabo siguiendo las orientaciones descritas por la norma 423 de la OECD para la aplicación del método de las Clases de Toxicidad Aguda (CTA) (6), y según lo previsto en los Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT) códigos del 421 005 al 422 002, del Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED), perteneciente al Instituto Superior de Ciencias Médicas (ISCM) de Santiago de Cuba.

Grupo experimental, dosificación y frecuencia de administración

Se empleó un grupo experimental (GTM) compuesto de 3 ratas hembras. La noche anterior (12 horas antes) a la administración única, los animales fueron puestos en ayuno. El día de la administración las ratas se pesaron (día 0), este peso se utilizó para determinar el volumen de la Solución CM-95 TM de la sustancia de ensayo a administrar. A todas las ratas del grupo experimental se les administró el producto por vía oral a través de una sonda gástrica No. 10 (Vigón, Francia) en el día 0 del estudio. El nivel de dosis estuvo relacionado con la intensidad del tratamiento magnético a la Solución CM-95, para la cual se empleó 0,16 T (máxima inducción magnética permisible para la obtención del candidato a inmunopotenciador según la tecnología aplicada), a partir de la cual hay más probabilidad de causar daño o muerte a una parte o la totalidad de los animales y que por tanto se relaciona con el nivel de dosis inicial más elevado que establece la norma (Dosis Límite: 5000 mg/kg de peso corporal). El volumen de la solución a administrar se calculó sobre la base de 2 ml de la solución/ 100 g de peso corporal.

Determinación del peso corporal, duración del ensayo y observaciones

Los animales se pesaron en una balanza digital marca Sartorius, con capacidad de 6000 g y sensibilidad de 0,1 g, los días 0, 7 y 14; en las condiciones ambientales descritas anteriormente. Durante la fase experimental se realizaron observaciones clínicas diarias, a fin de registrar cualquier variación en el comportamiento o signo de toxicidad. Estas evaluaciones clínicas incluyeron cambios

en la piel y pelaje, coloración y apariencia de las membranas mucosas y ojos, sistema respiratorio, nervioso central y periférico, y actividad somatomotora, así como muerte y tiempo de ocurrencia de la misma. Concluidas las observaciones clínicas, a los 14 días, los animales fueron sacrificados por narcosis con el anestésico Calipsol (ketamina inyectable), por vía intraperitoneal en dosis de 50 mg/kg de peso corporal. Posteriormente se realizó el estudio anatomopatológico macroscópico donde se observaron los siguientes órganos: corazón, pulmón, hígado, estómago, bazo, riñón y ovarios.

Ensayo de irritación de la mucosa oral

El ensayo se llevó a cabo teniendo en cuenta la guía metodológica: Organización Internacional de Normalización (ISO 10993-10, 1992).

Grupo experimental, dosificación y frecuencia de administración

Se formaron 2 grupos experimentales de 3 animales cada uno, un grupo tratado con la sustancia de prueba (GTM) y un grupo control (GC). Al GTM se le administró, mediante pellet de algodón, la sustancia de ensayo (Solución CM-95 TM) con un nivel de inducción magnética de 0,16 T; al GC se le aplicó un pellet de algodón con agua destilada. La administración se realizó en la bolsa gular derecha de cada animal, 5 minutos cada día durante los 7 días que duró el ensayo. Luego que se introdujo el pellet de algodón en la bolsa gular derecha, se colocó alrededor del cuello del animal un collar de 3,4 cm de ancho con el objetivo de evitar la expulsión del mismo y garantizar la respiración y los movimientos normales del animal.

Pesada, duración del ensayo y observaciones

Los animales se pesaron en una balanza digital marca Sartorius, con capacidad de 6000 g y sensibilidad de 0,1 g, en las condiciones ambientales descritas anteriormente. Transcurridos los 5 minutos de exposición al pellet en la bolsa gular derecha se les retiró éste y el collar a cada animal, y se lavó la misma con solución de cloruro de sodio (NaCl) al 0,9 % para poder determinar macroscópicamente cualquier anomalía en la mucosa oral. Se registraron los resultados para cada animal diariamente.

La apariencia de la mucosa de la bolsa gular de cada animal se describió determinando el grado de irritación para eritema según la Tabla 1 (11).

Tabla 1. Categorización de las sustancias de acuerdo al grado de reacción eritematosa.

Clasificación del eritema	Valor
No eritema	0
Muy ligero eritema	1
Moderado eritema	2
Eritema bien definido	3
Eritema severo, formación de escaras ligeras	4

Transcurridas 24 horas después de terminado el ensayo (7 días) se examinaron los buches macroscópicamente y se sacrificaron los animales por dislocación cervical. Las bolsas fueron extraídas y fijadas en formaldehído al 10 % procesada rutinariamente para posteriormente realizar el examen histológico. La evaluación histopatológica se realizó teniendo en cuenta los parámetros establecidos por la norma ISO/ DIS 10993-10 y se determinó el índice de irritación. La sustancia de prueba se clasificó de acuerdo a la escala que se presenta en la Tabla 2 (11).

Tabla 2. Clasificación de las sustancias de acuerdo al potencial irritante determinado en las evaluaciones histológicas.

Clasificación	Rango de valor
no irritante	0
irritante mínimo	1-4
irritante medio	5-8
irritante moderado	9-11
irritante severo	12-16

Procesamiento estadístico

Se utilizó el peso corporal y los hallazgos histopatológicos como variables para el tratamiento estadístico. Como medida de resumen para variables cuantitativas se determinaron medidas de tendencia central y dispersión (medias y desviaciones estándar). Para el análisis del peso corporal se verificó los supuestos de normalidad (pruebas de Kolmorov-Smirnov y Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (prueba de Levene) en cada tiempo de evaluación (12). Para determinar diferencias significativas de peso corporal se realizó ANOVA de medidas repetidas, tomando un nivel de

significación de $p < 0,05$. La comparación de los componentes principales se realizó con ajuste de Bonferroni.

El procesamiento de los datos se realizó utilizando el programa SPSS 11.5 sobre Windows.

RESULTADOS

Ensayo de toxicidad aguda oral

Signos clínicos

En las observaciones clínicas realizadas a los animales administrados con la Solución CM-95 TM, no se evidenciaron signos clínicos que pudieran asociarse a efectos tóxicos sistémicos. No se reportaron cambios en el pelaje, la coloración y apariencia de los ojos. La actividad somatomotora y el comportamiento de las ratas fue el normal para la especie.

No se registraron muertes.

Comportamiento del peso corporal

El peso corporal como indicador de toxicidad, no arrojó evidencia de toxicidad. En la Tabla 3 puede observarse que se mantuvo un incremento de peso corporal con la aplicación de la dosis límite, durante el período de observación.

Tabla 3. Comportamiento del peso corporal (media \pm error standard) en ratas Sprague Dawley hembras durante el ensayo de toxicidad aguda oral por el método de las Clases de Toxicidad Aguda (CTA) de la solución CM-95 TM.

Grupo	Sexo	Tiempo (días)		
		0	7	14
GTM	H	158,20 \pm 0,98 (a)	188,63 \pm 3,18 (b)	195, 17 \pm 4,52 (b)

Nota: Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) según test de Tukey HSD. H: hembras

Estudio anatomopatológico

Durante la observación macroscópica no se encontraron alteraciones de valor diagnóstico en ninguno de los órganos inspeccionados durante la necropsia. Los estudios histológicos no mostraron alteraciones en la citoarquitectura de los tejidos estudiados que pudieran ser atribuibles a procesos de tipo tóxicos.

Como no hubo signos clínicos que evidenciaran toxicidad ni muerte en los animales, solo fue necesario un paso con tres ratas. La dosis límite para este estudio se rela-

cionó con el máximo nivel de inducción magnética permisible para la obtención del candidato a inmunopotenciador según la tecnología aplicada. Si se tiene en cuenta que esta adaptación se correspondió con la Dosis Límite: 5000 mg/kg de peso corporal, de acuerdo con las regulaciones establecidas por la OECD (6), lo cual se corresponde con una $DL50 > 2000$ mg/kg (Tabla 4). Por lo que, es improcedente pasar a los niveles inferiores de inducción magnética en virtud de los resultados mostrados para la dosis de la sustancia en estudio. Así, se enmarcó a esta sustancia como "no clasificada", atendiendo a la escala referida en la Tabla 4 (13), donde este valor se encuentra en el rango máximo.

Tabla 4. Escala de clasificación de las Clases de Toxicidad Aguda (CTA).

CTA	Rango de la DL 50	Clasificación
CTA 5:	$DL50 > 2000$ mg/kg	No clasificada
CTA 4:	$300 < DL 50 \leq 2000$ mg/kg	Peligrosa
CTA 3:	$50 < DL50 \leq 300$ mg/kg	Tóxica
CTA 2:	$5 < DL50 \leq 50$ mg/kg	Muy Tóxica
CTA 1:	$DL50 \leq 5$ mg/kg	Altamente Tóxica

Ensayo de irritación de mucosa oral

Las observaciones macroscópicas de mucosa oral no reflejaron presencia de eritema. No hubo signos clínicos que evidenciaran toxicidad, ni muerte, y el comportamiento en general de los animales fue el normal para la especie.

El comportamiento del peso corporal aparece reflejado en la Tabla 5, donde se puede apreciar que se mantuvo un incremento constante de peso corporal, sin que existieran diferencias significativas entre cada tiempo de evaluación ($p > 0,05$) para cada grupo.

Tabla 5. Comportamiento del peso corporal (media \pm error standard) durante el ensayo de irritación de mucosa oral.

Grupo	Sexo	Tiempo (días)		
		0	4	7
GTM	H	65,17 \pm 3,51	70,07 \pm 4,49	73,37 \pm 4,93
GC	H	71,07 \pm 1,03	73,03 \pm 1,5	77,23 \pm 1,9

Nota: Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) según test de Tukey HSD. H: hembras.

En el estudio macroscópico e histopatoló-

gico de la mucosa de la bolsa gular derecha de los animales tratados no se observaron alteraciones de valor diagnóstico. El índice de irritación obtenido para el grupo tratado con la Solución CM-95 TM fue de 0, igual que para el grupo control, clasificándose la sustancia ensayada como "no irritante" en el modelo animal, nivel de dosis utilizado y bajo las condiciones experimentales observadas.

DISCUSIÓN

Si bien la norma OECD 423, expresa las dosis basadas en cambios de la concentración de la sustancia ensayada; en este estudio se emplea una solución que mantiene su concentración y lo que establece la dosis es la inducción magnética aplicada. Este parámetro en el producto evaluado propicia que se obtengan las propiedades inmunostimulantes reportadas. Siendo así, se homologó el parámetro de concentración tradicionalmente utilizado con la inducción magnética. En la literatura científica se reportan estudios toxicológicos en los cuales se evalúan los efectos toxicológicos del campo magnético. De igual forma que para este estudio se tienen en cuenta las intensidades de campo magnético aplicadas, como parte de la dosis (14-17). Teniendo en cuenta la Tabla 4, se escogió la máxima inducción magnética permisible (0,16 T), por la tecnología empleada y validada en el CNEA, que además de sus efectos como dosis superior a la efectiva, tiene más probabilidad de causar daño o muerte a una parte o a la totalidad de los animales.

Un indicador importante en la toxicidad de cualquier sustancia lo constituyen las manifestaciones clínicas, ya que es posible determinar daños asociados a lesiones en sistemas de órganos, que traen por resultado cambios en sus funciones. Además, se plantea que toda sustancia tóxica produce alteraciones anatomofisiológicas que se manifiestan en modificaciones en el cuadro clínico general, y éstas dependen de la severidad y extensión de la lesión, así como de los sistemas de órganos involucrados, duración de la exposición, cantidad total de la sustancia en sangre, edad y salud general del animal (18).

Las observaciones clínicas muestran ausencia de toxicidad para esta solución trata-

da magnéticamente; pues no se observaron alteraciones etológicas ni morfológicas en ninguno de los ensayos realizados.

Los datos referentes al peso corporal poseen una gran sensibilidad para detectar alteraciones debidas a productos químicos de baja toxicidad. El peso corporal es uno de los indicadores que mayor información ofrece en los estudios toxicológicos (19).

Los resultados muestran incremento del peso en los animales utilizados en los estudios preclínicos ensayados, lo cual constituye un índice indirecto de la no toxicidad de la Solución CM-95 TM, durante todo el tiempo que duraron los mismos, teniendo en cuenta que la disminución del peso corporal es un indicador de alteraciones en la salud general del animal.

El índice de irritación sobre mucosa oral obtenido para la Solución CM-95 TM se encuentra cercano al del grupo control (0), siendo este un excelente índice para productos considerados aptos para el empleo en humanos (11).

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en estos estudios, se puede afirmar que en los modelos animales empleados, nivel de dosis utilizado y bajo las condiciones experimentales observadas, la solución CM-95 TM, se enmarca como "no clasificada" y "no irritante" para los ensayos de toxicidad aguda oral e irritación sobre mucosa bucal respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Takx-Kohlen, B.C. (1992). Immunomodulators. Future prospects. Pharm Weekbl Sci. 14, 24-52.

2. Abbas, A. K.; Lichman, A.H.; Pober, J.S. (2000). Inmunología Celular y Molecular. 3ra Edición. Mac.-Graw Hill Interamericana. Madrid. p 3-527.

3. Martínez, C.E.; Rodríguez, B.; Cobas, G.; Hurtado, A.; Pérez, I.; Correa, M. (1999). Patente cubana Resolución No.1114/1999. Certificado No.22583.

4. Martínez, C.E.; Cobas, G.; Lebeque, Y.; Fontaine, R.A.; Pérez, I.P.; Morris, H.Q.;

Almenares, J.V. (2003). Evaluación de la sustancia CM-95 tratada magnéticamente como inmunopotenciador con antígenos de *Pseudomonas aeruginosa*. Biotecnología Aplicada. 20, 160-3.

5. Fernández Larrea, O. (1992). Efecto del campo magnético sobre microorganismos que se emplean en el control fitosanitario. Instituto de investigación de sanidad vegetal. MINAGRI, La Habana, Cuba.

6. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD/OCDE). (2001). OECD Guidelines for the testing of chemicals. Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method.

7. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) (2001). Guidance document on acute oral toxicity testing. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No. 24, July 2001. [[http://www.olis.oecd.org/olis/2001doc.nsf/LinkTo/NT00004CE6/\\$FILE/JT00111082.PDF](http://www.olis.oecd.org/olis/2001doc.nsf/LinkTo/NT00004CE6/$FILE/JT00111082.PDF)]

8. Saíz, M.L.; García, D.E.; Osma, J.L.; Compaire, F.C. (1983). Animales de laboratorio. Cría, Manejo y Control Sanitario. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Madrid, España, 147.

9. Instituto Cubano de Normalización, Metrología y Control de la Calidad (ICNMCC). (1975). Control de la Calidad. Selección de muestras aleatorias. Tabla. NC-92-09. La Habana: ICNMCC, 1-14.

10. Good laboratory practice for non clinical laboratory studies. (1997). Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations. Title 21 Food and Drugs. Chapter I, Subchapter A, Part 58.

11. Norma ISO/DIS 10993-10. (1992). Biological Evaluation of Medical Devices part 10. Test for irritation and skin sensitization, 37-40.

12. Zar, J.H. (1999). Biostatistical analysis. 4ta Edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA.

13. Schlede, E.; Mischke, V.; Roll, R.; Kay-

ser, D. (1992). A national validation study of the Acute-Toxic- Class Method an alternative to the LD50 Test. *Arch Toxicol* 66: 455-70.

14. Sanz, P.; Vallejo, D.; Picazo, M.L.; Bardasano, J.L. (1997). Influencia del sexo en la respuesta de los ratones OF1 tras la exposición constante a campos de 15 μ T y 50 Hz. Estudio hematológico. Libro del Congreso de Bioelectromagnetismo y Salud Pública. Madrid. Universidad de Alcalá, 30-31 Oct. 63-71. (resumen).

15. Lindstrom, E. (1995). CD45 Phosphatase in Jukart cells is necessary for response to applied ELF magnetic fields. *FEBS Lett*, 118-22.

16. García, J.M.; Ferro, M.T.; Cabello, P.; Vallcorba, T.; Sánchez, M.C.; Villalón, C.; San Roman, C. (1997). Estrategia para el análisis mutagénico-carcinogénico de

campos electromagnéticos: seis años de experiencia en 50 Hz. Libro del Congreso de Bioelectromagnetismo y Salud Pública. Madrid. Universidad de Alcalá, 30-31 Oct. 155-62. (resumen).

17. McCaan, J.; Dietrich, F.; Rafferty, C.; Martin, A.O. (1993). A critical review of the genotoxic potential of electric and magnetic fields. *Mutat. Res.* 297, 61-95.

18. Chan P.K. and A.W. Hayes. (1994). Acute Toxicity and Eye Irritancy. In: *Principles and Methods of Toxicology*. Third Edition. A.W. Hayes, Editor. Raven Press Ltd., New York, USA, 54-58.

19. Mosberg, A.T.; Hayes, W.A. (1989). Subchronic toxicity testing. En: *Principles and methods of toxicology*. 2da. Ed., A.W. Hayes Ed., Raven Press Ltd. NY, USA. 23-67.

EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN AMBIENTAL A PLAGUICIDAS ORGÁNICOS PERSISTENTES EN DOS BARRIOS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA

Lucero, Patricia*; Nassetta, Mirtha; De Romedi, Adriana

Laboratorio de Plaguicidas. Subsecretaría CEPROCOR. Ministerio de Ciencia y Tecnología. Gobierno de la provincia de Córdoba. Pabellón CEPROCOR. Santa María de Punilla. 5164 Córdoba. República Argentina. Tel/FAX: + (54-3541) 489650/55 (int. 119)
* E-mail: plucero@ceprocor.uncor.edu

Resumen: EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN AMBIENTAL A PLAGUICIDAS ORGÁNICOS PERSISTENTES EN DOS BARRIOS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA. Patricia Lucero; Mirtha Nassetta; Adriana De Romedi. *Acta Toxicol. Argent. (2008) 16 (2): 41-46*. Se determinó la concentración de plaguicidas organoclorados en 167 muestras de sangre entera de habitantes de dos barrios (Sitio N° 1 y Sitio N° 2) de la provincia de Córdoba ubicados en los alrededores de depósitos de plaguicidas obsoletos. La presencia de plaguicidas se determinó por cromatografía gaseosa con detector de captura electrónica utilizando columnas capilares de distinta polaridad. Los plaguicidas más frecuentemente encontrados fueron p,p'-DDE, β -HCH y HCB. La máxima concentración detectada fue 7,31 $\mu\text{g/l}$ y correspondió a p,p'-DDE. El β -HCH mostró valores más altos que los otros isómeros en la familia de los hexaclorociclohexanos (HCH). Se observó buena correlación entre la concentración de p,p'-DDE y la edad tal como se esperaba para un contaminante persistente y bioacumulable. El trabajo aporta información sobre los niveles de plaguicidas organoclorados en sangre en una población con exposición ambiental estudiada frente a denuncias periodísticas y de los mismos habitantes del lugar.

Palabras clave: Plaguicidas organoclorados; Exposición ambiental; Monitoreo biológico; Biomarcador.

Abstract: ASSESSMENT OF ENVIRONMENTAL EXPOSURE TO PERSISTENT ORGANIC PESTICIDES IN TWO NEIGHBORHOODS OF THE PROVINCE OF CÓRDOBA. Patricia Lucero; Mirtha Nassetta; Adriana De Romedi. *Acta Toxicol. Argent. (2008) 16 (2): 41-46*. Organochlorine pesticides were analyzed in 167 samples of whole blood collected from people from two different sites in the province of Córdoba (Site N° 1 and Site N° 2). These sites were close to unused pesticides store. The presence of pesticides was determined by gas-chromatography with electron-capture detection using capillary columns. p,p'-DDE, β -HCH and HCB were the most frequently pesticide detected. The highest concentration found was 7,31 $\mu\text{g/l}$ of p,p'-DDE. β -HCH showed highest values than its two isomers. As expected, significant relationship was found between the level of p,p'-DDE and the age, since the former is a persistent and bioaccumulative compound. This paper shows the organochlorine pesticides levels in a population with environmental exposure.

Key words: Organochlorine pesticides; Environmental exposure; Biological monitoring; Biomarker.

Palavras-chave: Pesticida; Contaminação ambiental; Monitorização biológica.

INTRODUCCIÓN

Los Compuestos Orgánicos Persistentes (COPs) son los más peligrosos de todos los contaminantes que la actividad humana libera al ambiente. La Convención de Estocolmo (2001) incluye en la llamada "docena sucia" los siguientes plaguicidas organoclorados: aldrin, clordano, DDT e isómeros, dieldrin, endrin, heptacloro, hexaclorobenceno (HCB) y mirex; además de toxafeno, bifenilos policlorados, furanos y dioxinas. (1) Los COPs son compuestos orgánicos de origen antropogénico que comparten las siguientes características: tienen propiedades tóxicas, son lipofílicos, resistentes a la degradación, se acumulan en la cadena alimentaria (bioacumulación y

biomagnificación), pueden ser transportados a grandes distancias por el aire, agua y las especies migratorias y depositados lejos de su lugar de liberación (circulación global). La evidencia sugiere que los COPs tienen el potencial para causar efectos adversos significativos en la salud humana. Los efectos agudos después de una exposición a elevadas concentraciones están caracterizados e incluyen entre otros: cloroacné (PCBs, dioxinas); cirrosis hepática, porfiria, artritis y desórdenes neurológicos (HCB); neurotoxicidad e inmunotoxicidad (dioxinas). Estas francas manifestaciones de efectos adversos no son comunes en los casos de exposición a bajas concentraciones derivadas del ambiente o de la cadena alimentaria.

Existen estudios que demuestran que la exposición crónica a concentraciones bajas de ciertos COPs puede estar asociada a un amplio rango de efectos biológicos tales como: disfunción inmunológica, deficiencias neurológicas, anormalidades reproductivas, alteraciones en la conducta y carcinogénesis. (2,3)

Una fuente importante de contaminación ambiental con plaguicidas, además del uso indebido en general, proviene del manejo inadecuado de los desechos de plaguicidas utilizados y de los vencidos o prohibidos. Así, se han encontrado en distintos puntos del país enterramientos o depósitos clandestinos de plaguicidas, práctica legal hasta la sanción de la Ley 24.051/1992. (4,5)

La evaluación de la exposición a plaguicidas puede realizarse a través de la determinación de los mismos y/o sus metabolitos en un medio biológico (orina, sangre, saliva, leche materna, etc.). Si bien toda dosis interna detectable representa exposición al plaguicida monitoreado es difícil distinguir entre "sobrexposición" y exposición basal. Para lograr esta distinción deben emplearse valores de referencia. (6)

El objetivo del presente trabajo fue sistematizar y evaluar los resultados de la determinación de plaguicidas organoclorados en muestras de sangre entera de los habitantes de dos barrios de la provincia de Córdoba próximos a depósitos no declarados de plaguicidas obsoletos para aportar información sobre el nivel de estos compuestos en sangre.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras

Las muestras correspondieron a sujetos que habitaban barrios ubicados en los alrededores de depósitos de plaguicidas obsoletos en la ciudad de Córdoba (Sitio N° 1) y en una localidad a 150 km al oeste de la capital (Sitio N° 2). Este estudio se encaró frente a denuncias periódicas y de los mismos pobladores de los sitios. En este trabajo se sistematizaron y analizaron los resultados de las muestras de sangre extraídas durante el período 2004-2006. Las muestras fueron tomadas por personal del Hospital de Niños de la Santísima Trinidad

- Dirección de Epidemiología – Ministerio de Salud y Acción Social de la provincia de Córdoba. Se colectaron muestras de sangre entera anticoagulada con heparina. Las mismas fueron conservadas en viales de vidrio con tapa a rosca y septum de teflón en freezer (-20 °C) hasta su análisis. Se analizaron 102 muestras del Sitio N° 1 y 65 del Sitio N° 2 correspondientes a individuos de edades comprendidas entre 1 y 82 años. Se confeccionó una ficha para cada habitante siguiendo el modelo del registro de atención de los Laboratorios de análisis clínico- toxicológicos de la Red Argentina de Toxicología donde figuran datos tales como nombre, edad, dirección, tipo de exposición, tipo de muestra, agente, vía de ingreso, analitos a determinar y metodología.

Método analítico

Extracción líquido-líquido con hexano; concentración del extracto y análisis por cromatografía gaseosa con detector de captura electrónica de una alícuota del extracto concentrado (7).

Equipos

Se usaron dos cromatógrafos de gases con detector de captura electrónica (CG-ECD) y columnas capilares de diferente polaridad para la identificación y luego para la cuantificación de los compuestos organoclorados. Se investigaron los siguientes analitos: p,p'-DDE, β -HCH, HCB, heptacloro, heptacloro epóxido, α -HCH, δ -HCH, p,p'-DDT, endrin, lindano, dieldrin, o,p'-DDT, aldrin, o,p'-DDE, o,p'-DDT, metoxicloro, trans-clordano, cis-clordano, α -endosulfán y β -endosulfán.

Controles de calidad

Se utilizaron controles de calidad interno; blanco de reactivos; límite de detección (LD) = 0,10 μ g/l; límite de cuantificación (LC) = 0,30 μ g/l; ensayos de recuperación = 69 % - 118 % (niveles de aceptación: 60% - 120%); rango lineal = 0,10 μ g/l - 8,55 μ g/l; curvas de calibración y materiales de referencia. Control de calidad externo: Interlaboratorio G-EQUAS (German External Quality Assessment Scheme – Institute and Out-Patient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the Friedrich-Alexander-University of

Erlangen-Nuremberg, Germany). Ensayo Interlaboratorio – Residuos de pesticidas. Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI) años 2004/05/06.

Análisis de los datos

Se utilizaron los software estadísticos Origin 5.0 Professional e InfoStat/Profesional. Versión 2006 d.2

RESULTADOS

En la *Figura 1* se presentan cromatogramas característicos de una solución de estándar de HCB, un blanco de reactivos y los extractos (original y duplicado) de una muestra que proviene de un individuo del Sitio N° 1.

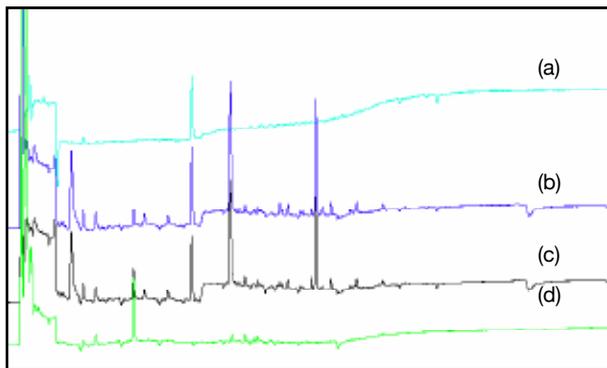


Figura 1. Cromatogramas correspondientes a una solución de estándar de HCB (a); extracto de una muestra original y duplicado (b) (c) y blanco de reactivos (d). En la muestra se detecta HCB.

Los plaguicidas encontrados con más frecuencia en ambos sitios tal como muestra la *Figura 2* fueron: p,p'-DDE, β-HCH y HCB. Las mayores diferencias en cuanto a frecuencia de detección se presentaron para α-HCH, p,p'-DDT, heptacloro, epóxido y dieldrin. Algunos plaguicidas tales como endosulfán, aldrin y clordano no fueron detectados en ninguna de las muestras. Las frecuencias de detección de p,p'-DDE, β-HCH y HCB presentan relaciones similares en ambos sitios. La proporción de niveles no detectables, no cuantificables y cuantificables es diferente para los analitos p,p'-DDE, β-HCH y HCB y para la población de ambos sitios tal como lo muestra la *Figura 3*.

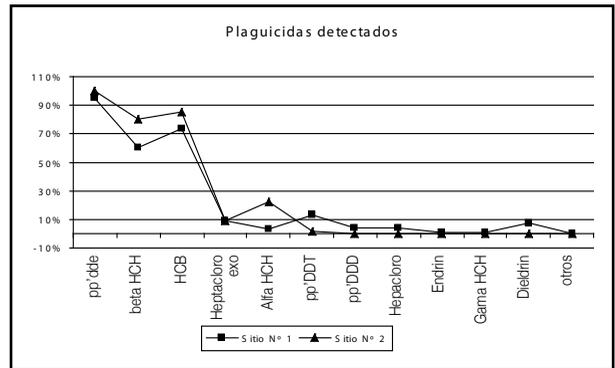


Figura 2. Porcentaje de muestras en las que se detectó cada plaguicida en ambos sitios.

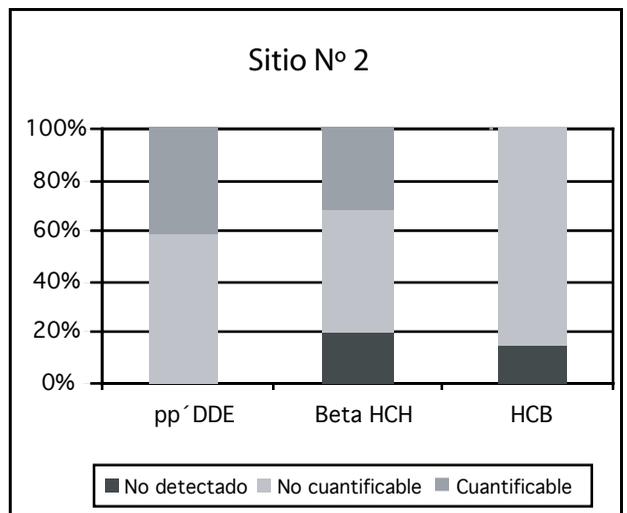
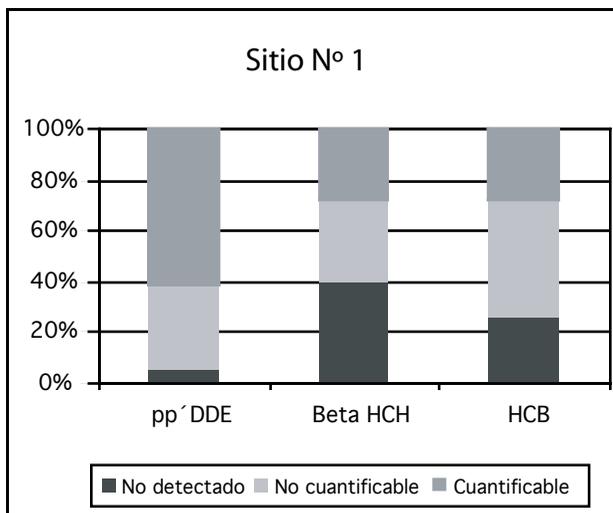


Figura 3. Frecuencias de niveles no detectados, cuantificables y no cuantificables para p,p'-DDE, HCB y β-HCH en las poblaciones de los Sitios N° 1 y 2 .

La máxima concentración detectada (7,31 µg/l) correspondió a p,p'-DDE en una muestra de un individuo del Sitio N° 1. El mayor nivel de plaguicidas organoclorados en sangre para la familia de los hexaclorociclohexanos (HCH) correspondió al isómero beta. Esto concuerda con estudios previos realizados en la población en general en nuestro país. (8, 9).

Las poblaciones fueron divididas en subgrupos correspondientes a intervalos de 10 años, se obtuvieron 7 grupos para facilitar la comparación de los datos ob-

tenidos en sangre entera con datos de bibliografía (10). La media aritmética y/o el rango de los plaguicidas detectados en cada sitio se presentan en las *Tablas 1 y 2*.

DISCUSIÓN

Las diferencias observadas en los plaguicidas detectados y no detectados y en los niveles encontrados en los Sitios N° 1 y N° 2 podrían explicarse sobre la base de diferencias en la exposición (vía de absorción, tiempo de exposición, dosis, vida media

Tabla 1. Media aritmética, frecuencia absoluta, frecuencia relativa y/o rango para los plaguicidas detectados en la población del Sitio N° 1.

Sitio N° 1				
Plaguicida	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa	Media (µg/l)	Rango (µg/l)
p,p'-DDE	97	95 %	0,68	ND - 7,31
β-HCH	61	60 %	0,32	ND - 4,12
HCB	75	74 %	---	ND - 1,38
Heptacloro epóxido	9	9 %	---	ND - LD
α-HCH	3	3 %	---	ND - LD
p,p'-DDT	13	13 %	---	ND - 1,14
Lindano	1	1 %	---	ND - 0,70
Heptacloro	4	4 %	---	ND - 0,24
Dieldrin	7	7 %	---	ND - LD
Endrin	1	1 %	---	ND - LD
p,p'-DDD	4	4 %	---	ND - LD
µg/l = microgramos de analito por litro de muestra LC (Límite de cuantificación): 0,30 µg/l			LD (Límite de detección): 0,10 µg/l ND: no detectado	
Relación p,p'-DDT/p,p'-DDE: 0,76				

Tabla 2. Media aritmética, frecuencia absoluta, frecuencia relativa y/o rango para los plaguicidas detectados en la población del Sitio N° 2.

Sitio N° 2				
Plaguicida	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa	Media (µg/l)	Rango (µg/l)
p,p'-DDE	65	100 %	0,53	LD - 3,99
β-HCH	52	80 %	0,44	ND - 4,86
HCB	55	85 %	---	ND - LC
Heptacloro epóxido	6	9 %	---	ND - 0,33
α-HCH	14	22 %	---	ND - 1,10
δ-HCH	1	2 %	---	ND - LC
p,p'-DDT	13	13 %	---	ND - LC
µg/l = microgramos de analito por litro de muestra LC (Límite de cuantificación): 0,30 µg/l			LD (Límite de detección): 0,10 µg/l ND: no detectado	
Relación p,p'-DDT/p,p'-DDE: 0,12				

del plaguicida, etc.), a factores individuales (edad, sexo, estado nutricional, predisposición genética, etc.) y a factores ambientales (plaguicidas presentes en el medio, factores climáticos, etc.). Esto significa que la detección de, por ejemplo, α -HCH con mayor frecuencia en las personas del Sitio N° 2 podría estar relacionado a la proximidad del depósito, puesto que este plaguicida solamente se encontró en el depósito de ese Sitio.

La relación p,p'-DDT/p,p'-DDE en el Sitio N° 1, podría indicar una exposición reciente y/o una mayor exposición a p,p'-DDT. En las inmediaciones de dicho Sitio había un depósito en el que estuvo almacenado DDT por más de 20 años y muchos de los vecinos vivieron en los alrededores del mismo durante ese tiempo. A este sitio corresponde el mayor valor encontrado que corresponde a p,p'-DDE = 7,31 μ g/l.

Es bien conocido que las concentraciones de COPs en medios biológicos son dependientes de la edad tal como se espera para un contaminante persistente y bioacumulable. Los Sitios N° 1 y 2 muestran diferencias en los valores obtenidos entre los grupos etarios. Las diferencias entre las concentraciones en la población de los 2 sitios se puede explicar debido al diferente n por grupo y al n bajo en algunos casos. Se observó buena correlación entre la concentración de p,p'-DDE y la edad tal como muestra la *Figura 4* para ambos sitios. El coeficiente de correlación estadístico de

Pearson fue 0,69 para el Sitio N°1 y 0,94 para el Sitio N°2 lo cual indicó que los parámetros edad y concentración de analito estuvieron relacionados y en concordancia con la capacidad de bioacumulación de estos compuestos (10).

Una de las limitaciones en el biomonitorio de compuestos persistentes es que no provee información sobre el momento, ni la "forma" de la exposición (intensidad, antigüedad, periodicidad), por lo cual no refleja lo complejo y cambiante que es este proceso a lo largo del tiempo. No disponer de sistemas de información ambiental desarrollados sobre poblaciones locales, hace que no existan bases de datos sobre las concentraciones corporales de COPs según ciudades, grupos de edad y género, hábitos alimentarios, ocupación, educación o clase social, relacionados con variables fisiológicas, clínicas y sociales. Esta situación limita la interpretación de los resultados del presente trabajo para establecer la relación entre la exposición a plaguicidas y la presencia de un depósito de los mismos en las inmediaciones de los barrios en estudio. Teniendo en cuenta que los valores hallados, que se muestran en las Tablas N° 1 y 2, se encuentran dentro del rango de los reportados en otros trabajos (9,10) para exposición basal a compuestos orgánicos persistentes, se propone que los detallados aquí podrían emplearse como valores guía para individuos de la provincia de Córdoba,

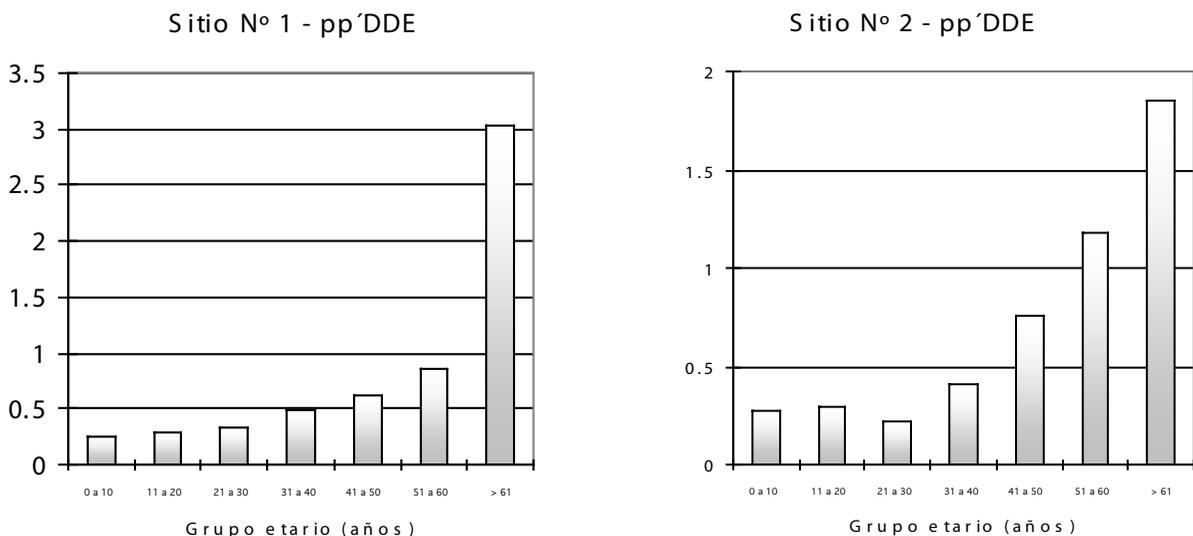


Figura 4. Niveles de p,p'-DDE en las distintas franjas etarias en ambos sitios.

frente a una instancia de evaluación de la exposición a plaguicidas tanto para casos próximos a sitios contaminados como para la población en general. Consideramos que estos valores reflejan mejor la exposición a plaguicidas orgánicos persistentes en el ámbito de nuestra provincia, que los que están publicados y se utilizan actualmente, pero que corresponden a otros países, o a otras zonas de nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Persistent Organic Pollutants (POPs) [en línea] U. S. Environmental Protection Agency (EPA) [en línea] <<http://www.epa.gov/oppfead1/international/pops.htm>> (Consulta: noviembre 2008).
2. Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes. [en línea] <http://www.pops.int/documents/convtext/convtext_sp.pdf> (Consulta: octubre 2008).
3. Curso de autoinstrucción en diagnóstico, tratamiento y prevención de intoxicaciones agudas causadas por plaguicidas. CEPIS/OPS. [en línea] <<http://www.cepis.ops-oms.org/tutorial2/e/index.html>> (Consulta octubre 2008).
4. García, S.; Lawrynowicz, A.; Bovi Mitre, G.; De Titto, E.; Vermé, C.; Vacchino, M. Situación de las intoxicaciones por plaguicidas en la República Argentina, documento del Seminario-Taller internacional de vigilancia de intoxicaciones por plaguicidas. Ministerio de Salud. Secretaría de Programas Sanitarios Subsecretaría de Programas de Prevención y Promoción. 10 al 12 de diciembre de 2002.
5. Pechen de D'Angelo, A.; Rubio, N.C.; Kirs, V.; Castro, G.D.; Delgado de Layño, A.M.A.; Constantini, M.H.; Roses, O.E.; Parica, C.A.; Castro, J.A. (1998). Análisis del riesgo potencial para la salud y el medio ambiente derivado de la disposición clandestina de agroquímicos en el Cuy, provincia de Río Negro, Argentina. Acta Toxicol. Argent. 6 (2), 28-33.
6. Barr, D.B.; Needham L.L. (2002). Analytical methods for biological monitoring of exposure to pesticides: a review. Journal of Chromatography B. 778, 5-29.
7. Sunshine, I. (1978), Methodology for Analytical Toxicology. CRC Press, West Palm Beach, Fla, 81 pp.
8. Ridolfi A.; Fernández, R.; Contartese, C.; Olivera, M.; Álvarez, G.; Santisteban, R.; Vikelis, A.; Corres, E.; Ferreira, F.; Villamil, E. (2007). Evolución de residuos de plaguicidas organoclorados en niños de Barrio Ituzaingó de Córdoba. XV Congreso Argentino de Toxicología. Neuquén. Argentina. Acta Toxicol. Argent. 15 (Suplemento):5-80.
9. García Fernández, J.C.; Villamil; E.C.; Chechi, A.L.; Mingolla, L.R. (1987). Niveles plasmáticos de plaguicidas organoclorados en la población general. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. Vol. XXI, N°3, 345-349
10. Wilhelm, M., Ewers, U.; Schulz, C. (2003). Revised and new reference values for some persistent organic pollutants (POPs) in blood for human biomonitoring and environmental medicine. Int. J. Hyg. Environ. Health 206, 1-7.

ERRATA

En el suplemento 16 de septiembre de 2008, página 4 de Acta Toxicológica Argentina se deslizó un error en el resumen de Curieses y colaboradores. Aquí se publica la versión correcta.

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE *Rorippa nasturtium-aquaticum* MEDIANTE EL TEST DEL MICRONÚCLEO Y TEST DEL COMETA
Comparative Evaluation of *Rorippa nasturtium-aquaticum* through micronucleus Test and Comet Assay
Curieses, S.P.^{1,2}; Casanova, N.A.¹; Carballo, M.A.¹
y López Nigro, M.M.¹

¹ CIGETOX. Citogenética Humana y Genética Toxicológica- IN-FIBIOC- Dpto. Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956 Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

² Laboratorio de Toxicología de Alimentos. Depto. de Tecnología- Universidad Nacional de Luján.

E-mail: silvanapcurieses@yahoo.com.ar

Los principios activos presentes en extractos de plantas medicinales o comestibles pueden ser altamente beneficiosos para el consumo o inducir daño al material genético de los seres humanos. *Rorippa nasturtium-aquaticum* (berro de agua) perteneciente a la familia Brassicaceae, es un vegetal muy rico en vitaminas, isotiocianatos y se ha reportado su incidencia en la detoxificación de sustancias nocivas para el organismo.

El objetivo del presente trabajo fue realizar el análisis de posibles alteraciones inducidas por el extracto acuoso de berro mediante dos biomarcadores: Test del Micronúcleo (MN) y Test del Cometa (TC). La combinación de estos biomarcadores *in vitro* es recomendada a fin de establecer el posible mecanismo de acción de mutágenos potenciales.

Se ensayaron experimentalmente dos concentraciones del extracto acuoso en linfocitos de sangre periférica para TC y en linfocitos aislados para MN, de voluntarios sanos. El análisis estadístico se efectuó mediante el test ANOVA.

Los resultados obtenidos no muestran diferencias estadísticamente significativas respecto de los controles para los biomarcadores evaluados ($p > 0.05$). Del estudio se desprende que en las condiciones de ensayo el extracto de berro no induciría roturas de ADN doble y simple cadena ni sitios álcali-lábiles (TC), así como tampoco clastogenicidad (MN). Sería interesante evaluar su potencial capacidad de reparación de daño celular.

ADENDA

El siguiente resumen no llegó a publicarse en el suplemento 16 de septiembre de 2008 de Acta Toxicológica Argentina.

TÓXICOS EN MATERIALES DE EXPRESIÓN PLÁSTICA PARA USO INFANTIL: Situación en Uruguay

Teresa Séller

Cátedra de Toxicología e Higiene Ambiental (CHTA), Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Los niños de 2 a 12 años, a través del uso de materiales de expresión plástica, pueden verse expuestos a un considerable número de sustancias químicas que pueden ser tóxicas, tanto en sus hogares, como en centros educativos de nivel escolar e inicial.

Con frecuencia los materiales empleados no han sido destinados originalmente para este uso o no han sido diseñados teniendo en cuenta las condiciones de riesgo propias de la población infantil; en algunos casos no pueden considerarse seguras ni siquiera para adultos. Baste mencionar, sin pretender ser exhaustivos, la posible presencia de metales tóxicos como plomo y cromo y de solventes orgánicos, tales como tolueno y cetonas.

El riesgo tóxico es mucho mayor en un niño que en un adulto, debido a sus características peculiares.

Desde el punto de vista fisiológico, por encontrarse en una etapa de crecimiento, los niños tienen un metabolismo más rápido. La absorción y distribución en el organismo son más aceleradas, dando lugar a mayores concentraciones que en adultos debido al menor peso corporal. Al mismo tiempo, el incompleto desarrollo de los sistemas de defensa enzimático e inmunitario, sobre todo en los más pequeños, hacen al niño más sensible: cuanto menor es el niño, mayor es el riesgo.

Desde el punto de vista psicológico, debe tomarse en cuenta que al niño menor de 12 años es difícil exigirle una comprensión cabal de la necesidad de tomar precauciones y de seguirlas cuidadosamente (esto con frecuencia no es posible ni aún con adultos). A ello se le suman el hábito de introducirse cosas en la boca y/o tragarlas, la higiene defectuosa de manos, entre otros aspectos.

En Uruguay no existe aún una normativa específica para este tema, si bien se puede notar una mayor toma de conciencia general al respecto.

AGRADECIMIENTO A LOS REVISORES 2006-2008

La calidad de los artículos publicados en Acta Toxicológica Argentina es posible gracias a la cooperación y dedicación de numerosos profesionales prestigiosos. El Comité de Redacción quiere brindar un merecido reconocimiento a todos aquellos que han dedicado desinteresadamente su tiempo a revisar, evaluar y comentar los manuscritos submitidos a esta revista.

Agradecemos la participación de los siguientes revisores:

Adolfo de Roodt
Adriana Ridolfi
Alejandra Minetti
Alejandro Ferri
Amalia Laborde
Ana María Torres
Edda Villaamil
Elda Cargnel
Flavia Vidal
Gerardo Castro
Inés Rizzo
Luis Ferrari
Marta Salseduc
Miriam Virgolini
Mirta Ryczel
Mónica Nápoli
Oscar Botasso
Pablo Quiroga
Patricia Quiroga
Ricardo Antonio Fernández
Sergio Saracco
Susana García
Tomás Orduna
Viviana Crapanzano

INDICE DE AUTORES 2005 - 2007

AUTHORS INDEX 2005 - 2007

Autor	Volumen	Número	Página
Álvarez, G.	13	1	7
Andrinolo, D.	15	1	8
Arnal, N.	13	1	2
Aura, C.	15	1	8
Badea, M.	13	2	1
Balagué, C.	14	1	12
Barco, M.	15	1	8
Barlaro, C.	14	1	8
Bassols, G.B.	15	2	39
Bezzi, M.P.	14	1	8
Bindstein, E.	14	1	8
Bulacio, L.G.	15	1	1
Caixach, J.	15	1	8
Caneo, M.	15	1	8
Castillo, A.	13	2	1
Cousillas, A.	15	2	35
Cousseau, M.B.	13	1	17
Chiale, C.	14	1	8
Christiansen, H.E.	13	1	17
Chulze, S.N.	13	2	8
De Cristófano, M.A.	15	2	44
Demetrio, P.	13	1	2
Díaz-Barriga, F.	13	1	12
Echenique, R.	14	2	23
Echenique, R.	15	1	8
Evangelista de Duffard, A.M.	14	1	12
Fajardo, M.A.	13	1	20
Ferrari, L.	14	2	23
Fink, N.E.	15	1	16
Franco-Sánchez, G.	13	1	12
Fuentes, S.	15	2	44
García, G.B.	14	2	32

Autor	Volumen	Número	Página
Giannuzzi, L.	14	2	23
Giannuzzi, L.	15	1	8
Giolito, I.	15	1	1
Giuliani, S.L.	15	1	1
González, D.	13	1	7
Gruñeiro, E.	14	1	8
Gurni, A.A.	15	2	39
Heras, H.	13	1	2
Herrera-Portugal, C.	13	1	12
Landeros, P.	13	2	8
Lavarías, S.	13	1	2
López, A.	14	1	2
López, C.M.	13	1	7
López, C.M.	13	1	20
Magnarelli, G.	14	1	2
Mañay, N.	15	2	35
Martínez, G.	15	2	35
Marty, J.L.	13	2	1
Massera, S.	15	1	8
Mirson, D.	13	1	7
Mirson, D.J.E.	15	2	44
Navoni, J.	15	2	44
Noriega, M.F.	15	2	39
Ochoa-Díaz López, H.	13	1	12
Panelo, M.S.	15	1	1
Pascuali, G.	13	1	7
Pasquevich, Y.	13	1	2
Pereira, P.	15	1	8
Pérez, A.Á.	13	1	20
Pérez, L.B.	13	1	20
Piñeiro, A.	13	1	20
Pongelli, V.	13	1	7
Quiroga, P.N.	15	2	44
Reyes, W.	13	2	8
Ridolfi, A.	13	1	7
Ridolfi, A.S.	15	2	44
Rodríguez Girault, M.E.	13	1	7
Rodríguez, Y.	14	1	8

Autor	Volumen	Número	Página
Rojo, F.	13	2	8
Roldán, R.M.			39
Rosenberg, C.E.	15	1	16
Rovedatti, M.G.	14	1	2
Salibián, A.	15	1	16
Santa Cruz, S.	14	1	2
Silva Nunes, G.	13	2	1
Strobl, A.M.	13	1	20
Torres, A.M.	13	2	8
Trapassi, J.	14	1	2
Vela, L.	14	1	2
Vieira Carvalho Oliveira Marques, C.V.	13	2	1
Villaamil Lepori, E.C.	13	1	7
Villaamil Lepori, E.C.	15	2	44
Wagner, M.L.	15	2	39

INDICE DE TEMAS 2005 - 2007

TOPICS INDEX 2005 - 2007

Título	Volumen	Número	Página
ACCIÓN INJURIANTE DEL ATAQUE DEL CHUCHO (CHONDRICHTHYES, FAM. MYLIOBATIDAE). ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LOS TEGUMENTOS PRESENTES EN SU ESPINA	13	1	17
ALCOHOL ETÍLICO Y METÍLICO EN BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS	13	1	7
CONTENIDO DE PLOMO, CROMO Y CADMIO EN MOLUSCOS COMESTIBLES DEL GOLFO SAN JORGE (ARGENTINA)	13	1	20
DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE INSETICIDAS CARBAMATOS EM ALIMENTOS INFANTIS UTILIZANDO BIOSSENSORES AMPEROMÉTRICOS À BASE DE ENZIMAS ACETILCOLINESTERASES MUTANTES	13	2	1
DNA DAMAGE IN CHILDREN EXPOSED TO DDT IN A MALARIOUS AREA OF CHIAPAS, MEXICO	13	1	12

Título	Volumen	Número	Página
DRINKING WATER: PROBLEMS RELATED TO WATER SUPPLY IN BAHÍA BLANCA, ARGENTINA	14	2	23
EFECTO DEL HERBICIDA ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO SOBRE LA FIMBRIACIÓN DE BACTERIAS UROPATÓGENAS	14	1	12
EL VANADIO, UN ELEMENTO AMBIGUO	14	2	32
ESTUDIO DE GENOTOXICIDAD DE <i>Picrasma crenata</i> (Vell.) Engl. -SIMAROUBACEAE	15	2	39
ESTUDIO TOXICOLÓGICO DE UN INYECTABLE APÓCRIFO CONTENIENDO HIERRO COMO PRINCIPIO ACTIVO	14	1	8
EXPOSICIÓN A ESTIRENO EN CABINAS PREFABRICADAS. ESTUDIO COMPARATIVO 2003 - 2005	15	2	35
HUMORAL IMMUNE ALTERATIONS CAUSED BY LEAD: STUDIES ON AN ADULT TOAD MODEL	15	1	16
METABOLITOS DEL EFAVIRENZ COMO PROBABLE CAUSA DE FALSOS-POSITIVOS EN TEST INMUNOLÓGICO PARA BENZODIACEPINAS EN ORINA	15	2	44
NIVELES Y PROBABLE ORIGEN DE LOS HIDROCARBUROS DEL ARROYO PAMPEANO "EL PESCADO" (PCIA. DE BUENOS AIRES, ARGENTINA)	13	1	2
OCCURRENCE OF MICROCYSTIS AERUGINOSA AND MICROCYSTINS IN RIO DE LA PLATA RIVER (ARGENTINA)	15	1	8
PREVENCIÓN EN SALUD AMBIENTAL PARA POBLACIONES EXPUESTAS A PLAGUICIDAS: ENTREVISTAS EN COMUNIDADES RURALES Y TALLER EDUCATIVO PARA AGENTES MULTIPLICADORES	14	1	2
SEGURIDAD EN LA APLICACIÓN DE PRODUCTOS FITOSANITARIOS EN CULTIVOS HORTÍCOLAS Y FRUTÍCOLAS	15	1	1
SPHINGANINE/SPHINGOSINE (SA/SO) RATIO AND INTAKE OF FUMONISIN CONTAMINATED TORTILLAS IN A MEXICAN POPULATION	13	2	8

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Acta Toxicológica Argentina (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 03279286) es el órgano oficial de difusión científica de la Asociación Toxicológica Argentina. Tiene por objetivo básico la publicación de trabajos originales, comunicaciones breves, actualizaciones o revisiones, temas de divulgación, comentarios bibliográficos, notas técnicas y cartas al editor. Asimismo, se publicarán noticias relacionadas con los diferentes campos de la Toxicología.

Acta Toxicológica Argentina (en adelante "Acta") publicará contribuciones en español, portugués e inglés. Todas serán evaluadas por dos revisores; la selección de los mismos será atributo exclusivo del Comité Editorial. Este proceso determinará que el mencionado Comité opte por rechazar, aceptar con cambios o aceptar para su publicación el trabajo sometido a su consideración. En todos los casos los autores recibirán copia sin firma de la opinión de los evaluadores.

Las contribuciones científicas originales enviadas a consideración de ATA deberán ajustarse al siguiente formato básico:

- Página 1: título, subtítulo, nombres completos del o de los autores, laboratorio o institución donde se realizó el trabajo, dirección postal completa, incluyendo código postal, correo electrónico, teléfono y fax, autor al cual debe dirigirse toda la correspondencia.

- Página 2: título del trabajo en castellano e inglés y resúmenes de hasta 250 palabras en castellano e inglés. Tres - cuatro palabras clave en castellano, portugués e inglés.

- Página 3 en adelante: Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión, Bibliografía citada, Leyendas de Ilustraciones y Tablas con leyenda.

La extensión máxima de estos aportes no deberá superar las 8 (ocho) páginas. El texto deberá ser escrito en PC, en papel tamaño A4, a doble espacio, con márgenes superior, inferior e izquierdo de 4 cm. Se deberán enviar 3 juegos. Conjuntamente con las 3 copias del manuscrito, los autores deberán remitir una versión en disquete de 3 1/2 pulgadas utilizando alguno de los siguientes procesadores de texto:

Word for MS-DOS; Word for Macintosh; Word Perfect for DOS, indicando programa y versión usados. En el caso que los revisores recomienden la revisión del trabajo, la nueva versión deberá enviarse en disquete y tres copias impresas consignando "versión 1".

Las comunicaciones breves deberán respetar un formato similar al indicado para las contribuciones científicas exceptuando el resumen en español. El texto no necesariamente se dividirá en las partes indicadas (Introducción, Material y Métodos, etc.); no obstante deberá contener en forma concisa la información que corresponde a esas partes. La extensión de esta categoría de aportes no deberá superar las 3 (tres) páginas.

Las revisiones, actualizaciones y temas de divulgación deberán ser lo más concisas posibles y su extensión no excederá de 6 (seis) páginas. Su redacción deberá considerar lectores con formación científica pero ajenos o alejados del tema. Se considerarán preferentemente las revisiones solicitadas por el Comité Editorial.

Los comentarios bibliográficos serán contribuciones solicitadas por el Director. El autor deberá emitir una opinión fundamentada del trabajo sometido a su consideración. Además deberá incluir la siguiente información: título en idioma original, autor/es, edición considerada, traductor, editorial y sede de la misma, tomo o volumen, número de páginas y año de edición. Se indicará claramente nombre del comentarista, institución a la que pertenece y domicilio completo. El texto no podrá ocupar más de 2 (dos) páginas.

Las notas técnicas se referirán exclusivamente a modificaciones de métodos, determinación de errores de las mismas, etc. Su extensión no superará las 2 (dos) páginas; al final deberán constar los datos que identifiquen claramente al autor/es.

Las cartas al Editor serán textos de una extensión no mayor de doscientas palabras y revestirán el carácter de correspondencia científica referida a textos publicados con anterioridad. El o los autores serán debidamente indicados.

Se solicita a los autores que tengan en

cuenta las siguientes normas al preparar sus manuscritos:

- En todos los casos se deberá consignar en el ángulo superior derecho de cada hoja el apellido del autor o del primer autor y el número correlativo que corresponda, incluidas las páginas con Tablas.

- En el caso de sustancias químicas se tomará como referencia prioritaria a las normas de la IUPAC.

- Los organismos se denominarán conforme a las normas internacionales, indicando sin abreviaturas el género y la especie en *itálicas* o subrayados.

- Las ilustraciones (fotografías, gráficos) deben ser confeccionadas sobre materiales de alta calidad, con técnicas que permitan su reproducción sin tratamientos especiales. Es aconsejable que este material tenga las dimensiones de la caja de Acta; los autores deben tener presente que en los casos de ilustraciones en las que sea necesario proceder a su reducción, el tamaño de las letras, números y demás elementos de las mismas deben tener dimensiones mayores para que la nitidez no se vea afectada luego de la impresión.

Se enviarán un juego de originales y dos copias. Cada una de las ilustraciones deberá portar en el dorso, escrito con lápiz suave, el número que le corresponde, nombre del primer autor y mediante una flecha se indicará la posición superior. Las leyendas irán en hoja aparte.

Los costos adicionales que pudieran ocasionarse por la edición de dicho material serán a cargo del autor.

- Las tablas y sus leyendas se presentarán en forma individual, en hoja aparte, identificadas mediante numeración arábiga conforme al orden en que aparecen en el texto.

La ubicación preferente de la tabla en el texto se indicará mediante una flecha. Las tablas se ubicarán al final de cada manuscrito.

- Las citas bibliográficas en el texto se indicarán mediante números correlativos, por orden de aparición, entre paréntesis; por ejemplo: “la separación de las isoenzimas se hizo por electroforesis de acuerdo a la técnica de Dietz y Lubtano (4)”

En el caso de citar artículos de más de dos autores, se indicará el apellido del primero seguido de la expresión et al.: “Castañé et

al. (5) fueron los primeros en...”

Las referencias bibliográficas serán agrupadas bajo el acápite “Bibliografía citada”; la lista se ordenará conforme a los números asignados.

El formato de las citas es el siguiente:

Artículo en publicación periódica:

“Malla Reddy, P. and M. Bashamohideen (1989). Fenvalerate and cypemmerhrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. Acta Hydrochim. Hidrobio. 17 (1), 101-107”

Libro: “Dix, H.M. (1981), Environmental pollution. John Wiley & Sons, New York, 286 pp.”

Las abreviaturas de la denominación de la revista serán las que ellas mismas indican en su texto.

- Cualquier modificación excepcional de las normas estipuladas que los autores soliciten será considerada por el Director.

- Las pruebas de galera se enviarán al autor indicado como receptor de la correspondencia. Las mismas serán revisadas y devueltas dentro de las 48 horas de recibidas.

- El autor indicado recibirá 10 separatas sin cargo. El excedente solicitado sobre esa cantidad será costado por el/los autores: la cantidad solicitada deberá ser indicada al Editor en el momento de devolver las pruebas de galera.

Toda la correspondencia referida a “Acta Toxicológica Argentina” deberá ser dirigida al Comité Editorial, Alsina 1441 (1088) Buenos Aires, Argentina Telefax ++54-11-4381-6919.

Se solicita canje con otras publicaciones temáticamente afines a Acta Toxicológica Argentina.

INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS

Acta Toxicológica Argentina (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 03279286) is the official journal of the Asociación Toxicológica Argentina (Argentine Toxicological Association) for scientific diffusion. Acta Toxicológica Argentina (herein below "Acta") is basically aimed at publishing original full-length papers, short communications, reports on research in progress or review papers, topics of interest to workers in Toxicology, book reviews, technical communications as well as letters to the Editor. News relevant to the different fields of Toxicology will also be published.

ATA will publish articles written in either Spanish, Portuguese or English. Every article will be evaluated by two examiners. Only the Editorial Board will be responsible for selecting articles with –that is, decisions about (a) rejected articles, (b) accepted articles with, however, changes to be introduced by authors, or (c) accepted articles with no changes whatsoever are a privilege of the Editor Board. In all cases, authors will receive an unsigned copy of the examiners' evaluation. Scientific original manuscripts submitted to the consideration of the Editorial Board should adhere to the following basic format:

- Page 1: Title, and subtitle of paper. Author's full names; academic or professional affiliation, and complete name of the laboratory or institution where research was done. Complete address (city, State or Province, zip code, country, e-mail, phone number and fax number).
- Page 2: Title of paper in Spanish and English. A list of three or four key words in Spanish or Portuguese and English should be included.
- Page 3 onward: As a rule, full length papers should be divided into sections headed by a caption: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References, caption of figures and caption of tables. Full-length papers should not exceed eight pages. Text should be typed with PC, on A4 paper, in double-spaced typing with at least 4 cm upper lower, and left margin. Typescripts should be submitted in triplicate. Besides the 3 copies of the manuscript,

authors are requested to submit the paper on diskette (3 1/2") made in one of the next word processing systems: Word for MS-DOS; Word for MACINTOSH; Word Perfect for DOS indicating the program and version used. Revised versions of the paper, because of referee's recommendations should always be accompanied by a new diskette and 3 printouts of the manuscript.

Short communications should adhere to a similar format. However it should contain no section headings, but text is supposed to contain, in a concise way, every information relevant to the above mentioned headings (Introduction, Materials and Methods, etc.). Short communications should not exceed three pages.

Review papers, updating, and reports on research in progress should be as concise as can be. Such articles should not exceed three pages. Their wording should address a scientifically educated readership that, however, can be unfamiliar with topics involved. Review papers, updating, and reports on research in progress previously requested to authors by the Editorial Board will be privileged.

Book review should have been requested to authors by the Editor. Authors should sustain their contention on the book submitted to their attention. Besides, authors of any book review should submit the following information: Title of the book in its original language, full names of authors or editors of the book, edition number of the book, translator's name if any, publisher's full name, city, volume number if any, number of pages and publishing years. The full name and academic or professional affiliation of the author of any book review should be stated clearly. Book review should not exceed two pages.

Technical communications should refer exclusively to modifications in scientific methods, determinations or errors committed in scientific methods, etc.

Technical communications should not exceed two pages. At the end of a communication, authors full name and particulars should be clearly identified. When submitting a full-length paper, authors should

take the following recommendation into account:

- On the upper right angle of every page, the last name (surname) of author (or the first author) should be typed next to the corresponding page number. Pages should also be paginated.

-When referring to chemicals, IUPAC standards should be preferred.

-Organisms should be denominated according to international standards. Gender and species should be stated unabbreviated. When using a computer word processor, authors should use italics. When using a typewriter, authors should underline.

-Illustrations (photographs, diagrams, etc.) should be made on top quality materials, the technique of which should allow illustration to be reproduced without special treatments whatsoever. It is advisable that illustrations be the same size as in Acta page. As regards illustrations that must be reduced, authors should see to it that letters, figures, and/or any other element in illustration be bigger-sized on the original so that such letters, figures or elements be still clearly readable once illustration has been reduced. Illustrations should also be sent in triplicate (one original and two copies).

On the reverse of illustration the following elements should be written with a soft lead pencil: Figure corresponding to illustration, last name (surname) of author (or first author). An arrow should point out the upper part of illustration. Captions to illustration should be typed on a separated sheet.

Authors should be aware that any extra charge caused by the printing of illustrations will be levied for each illustration.

-Tables and captions thereof should be submitted on separate sheets. Each page should be paginated with Arabic numerals, according to the order in which tables appear in article.

-Literature references in the text should be given at the appropriate places by numbers between brackets. For example: "Isoenzymes separation was performed by electrophoresis according to a technique developed by Diestz and Lubrano (4)".

When referring to an article written by more than one author, the last name (sur-

name) of the first author will be followed by "et al." For example:

"Castañé et al. (5) have been the first researchers in..."

- Literature references should be listed under the heading "References". References should be arranged according to the numbers given to citations in the text of article. Format of references is as follows:

- A paper published in a journal.

Malla Reddy P. and M. Bashamohideen (1989) Fenvalerate and Cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. Acta Hydrochim. Hydrobio. 17 (1), 101-107.

- a book: Dix H. M. (1981) Environmental pollution. John Wiley & Sons., New York, p. 286. A bridged name of journals should be the abridged name that a journal uses.

- Any exceptional modifications to the above mentioned instructions that authors should request will be submitted to the attention of the Editor.

Proofs will be sent to author whose address has been stated in paper. Author should review proof and airmail proof back to the Editor as soon as possible (within 48 hours of receiving proof, in the Argentine Republic).

Author, or first author will receive 10 off prints at no charge.

If author or authors request extra of prints, a charge will be levied.

Author or authors should state the number of extra of prints they wish to receive when they send back the reviewed proof to the Editor. Any correspondence referred to ATA should be sent to:

Acta Toxicológica Argentina – Comité Editorial – Alsina 1441 (1088) Buenos Aires, Argentina Telefax: ++54-11-4381-6919.

Exchange is kindly requested with journals the scope and purpose thereof are akin to the scope and purpose of "Acta Toxicológica Argentina".

INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES

Acta Toxicológica Argentina (Acta Toxicol. Argent.), (ISSN. 153279286) é o órgão especial de difusão científica da Associação de trabalhos originais, livros, comunicações, actualizações ou revisões, tema de divulgação, comentários bibliográficos, notas técnicas e cartas ao editor. Igualmente serão publicadas notícias relacionadas com diferentes campos da Toxicologia.

Acta Toxicológica Argentina (em adelante "Acta") publicará contribuições em espanhol, português e inglês. Todas serão avaliadas por dois revisores; a seleção deles será atribuição exclusiva do Comité Editorial. Este processo determinará que o mencionado Comité opte por eliminar, aceitar com alterações ou aceitar para publicação o trabalho submetido para sua consideração. Em todos os casos os autores receberão cópia sem assinatura da opinião dos avaliadores.

As contribuições científicas originais enviadas à consideração da Acta deverão ajustar-se à seguinte estrutura básica:

- Página 1: título, subtítulo nomes completos do ou dos autores, laboratório ou instituição onde se realizou o trabalho; endereço postal completo, incluindo código postal, telefone e fax; autor ao qual toda a correspondência deverá ser dirigida.

- Página 2: título do trabalho em espanhol, português em inglês; resumos de até 250 palavras, em espanhol, português e em inglês. Três, quatro palavras-chaves em espanhol, português e em inglês.

- Página 3 em seguida: o Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão, Bibliografia indicada, Títulos de Ilustrações e Quadros com legendas. A extensão máxima destes aportes não deverá superar 8 (oito) páginas. O texto deverá ser escrito com PC em papel tamanho A4 com espaço duplo, com margens superior, inferior e esquerda de 4 cm. Deverão ser enviados 3 jogos.

Junto con as cópias do manuscrito, os autores deverão enviar uma versão em disquete (de 3 1/2"), em um dos seguintes processadores de texto: WORD for MS-DOS, WORD for MACINTOSH, WORD PERFECT for MS-DOS. Caso os revisores

recomendem revisão do trabalho, a nova versão também deverá ser acompanhada de uma cópia em disquete e 3 jogos do texto em papel.

As comunicações breves deverão respeitar um formato semelhante ao indicado para as contribuições científicas. O texto não necessariamente será dividido nas partes indicadas (Introdução, Material e Métodos, etc.); não obstante, deverá conter em forma concisa a informação que corresponde a estas partes. A extensão desta categoria de aportes não deverá superar 3 (tres) páginas.

As revisões, actualizações e temas de divulgação deverão ser o mais conciso possível e sua extensão não excederá de 6 (seis) páginas. Sua redação deverá contemplar leitores com formação científica, porém, estranhos ao tema.

Considerar-se-ão preferentemente as revisões solicitadas pelo Comité Editorial.

Os comentários bibliográficos serão contribuições solicitadas pelo Diretor.

O autor deverá emitir uma opinião fundamentada sobre o trabalho submetido à sua consideração. Além disso, deverá incluir a seguinte informação: título em idioma original, autores, edição considerada, tradutor, editorial e respectivo lugar, o livro ou volume, número de páginas e ano da edição.

Será claramente indicado o nome do comentarista, instituição à qual pertence e endereço completo. O texto não poderá ocupar mais que 2 (duas) páginas.

As notas técnicas referir-se-ão exclusivamente a modificações de métodos, determinação dos respectivos erros etc. Sua extensão não ultrapassará 2 (duas) páginas; ao final deverão constar os dados que identifiquem claramente os autores.

As cartas do editor serão textos de extensão não superior a 200 palavras e terão o caráter de correspondência científica relacionada com textos publicados anteriormente. Autor ou autores serão devidamente indicados.

Solicita-se aos autores que tenham em conta as seguintes normas ao prepararem seus manuscritos:

- Em todos os casos dever-se-á consignar no ângulo superior direito de cada folha o sobrenome do autor ou do primeiro autor e o número correlativo que corresponde, inclusive as páginas com quadros.
- No caso de substâncias químicas, se adotará como referencia prioritária as normas da IUPAC.
- Os organismos serão denominados segundo as normas internacionais, indicando sem abreviaturas o gênero e a espécie em itálico ou sublinhados.
- As ilustrações (fotografias, gráficos) devem ser confeccionadas com materiais de alta qualidade, com técnicas que possibilitem sua reprodução sem tratamentos especiais. E aconselhável que este material tenha as dimensões de Acta; os autores devem ter em comta que, nos caso de ilustrações nas quais seja necessário proceder a sua redução, o tamanho das letras, números e outros elementos devem ter dimensões maiores para que a nitidez não seja afetada depois da impressão.
- Serão enviados um jogo de originais e duas cópias. Cada uma das ilustrações deverá levar no verso, escrito com lápis suave, o número que lhe corresponda, nome do primeiro autor e mediante uma seta será indicada a posição superior. Os títulos irão em folha separada.
- Os custos adicionais que possam produzir-se pela edição do referido material ficarão a cargo do autor.
- Os quadros e suas legendas serão apresentados em forma individual, em folhas separadas, identificadas segundo numeração arábica, segundo a ordem em que apareçam no texto. A localização preferida do quadro no texto será indicada mediante uma seta. Os quadros localizar-se-ão no final de cada manuscrito.
- As referências bibliográficas serão indicadas por números correlativos segundo se apresentem no texto: por exemplo, "A separação das isoenzimas foi feita por electroforese de acordo com a técnica de Dietz e Lubrano (4)".
- No caso de mencionar artigos de mais de dois autores, será indicado o sobrenome do primeiro seguido da expressão e ou: o "Castañé e ou (5) foram os primeiros em ..."
- As referências bibliográficas serão agrupadas segundo o título "Bibliografia cita-

da"; a lista será organizada segundo os números correspondentes.

O formato das citações é o seguinte:

- Artigo em publicação periódica: o "Malla Reddy, P. and M. Bashamohideen (1989). Fenvalerate and Cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. Acta Hydrochim. Hydrobio. 17(1), 101-107."
 - Livro: "Dix, H.M. (1981), Environmental pollution. John Wiley & Sons, New York, 286 pp."
 - As abreviações do nome das revistas serão as que elas mesmas indiquem no texto.
 - Qualquer modificação excepcional das normas estipuladas que os autores solicitem será considerada pelo Diretor.
 - As provas de impressão serão enviadas ao autor indicado como receptor da correspondência.
 - As mesmas serão revistas e devolvidas dentro de 48 horas após recebidas.
 - O autor indicado receberá 10 separatas sem despesa. O excedente solicitado sobre essa quantidade será custeado por ele ou demais autores; a quantidade solicitada deverá ser comunicada ao Editor no momento de devolver as provas de impressão.
- Toda a correspondência relativa à Acta Toxicológica Argentina deverá ser dirigida ao Comité Editorial, Alsina 1441, Of. 302 - (1088) Buenos Aires, Argentina.
Telefax: ++54-11-4381-6919.
Solicita-se troca com outras publicações tematicamente afins com a Acta Toxicológica Argentina.