

ISSN 0327-9286

*Acta*  
*Toxicológica*  
*Argentina*

Publicación de la Asociación Toxicológica Argentina  
Buenos Aires - Argentina



Asociación Toxicológica Argentina

Volumen 20  
N° 1  
Julio 2012

Acta Toxicológica Argentina es el órgano oficial de difusión científica de la Asociación Toxicológica Argentina. Integra el Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas y se puede acceder a sus artículos a texto completo a través de SciELO Argentina. Tiene por objetivo la publicación de trabajos relacionados con las diferentes áreas de la Toxicología, en formato de artículos originales, reportes de casos, comunicaciones breves, actualizaciones o revisiones, artículos de divulgación, notas técnicas, resúmenes de tesis, cartas al editor y noticias.



Asociación Toxicológica Argentina

Asociación civil (Personería Jurídica N° 331/90)

Adherida a la IUTOX

*Acta  
Toxicológica  
Argentina*

**Asociación Toxicológica Argentina**

**Comisión Directiva**

**Presidente**

Marta A. Carballo

**Vicepresidente**

Adriana S. Ridolfi

**Tesorero**

María L. Oneto

**Secretario**

Gerardo D. Castro

**Vocales**

Marcela M. López Nigro

Patricia N. Quiroga

Mónica C. Napoli

**Vocales Suplentes**

Gabriela Fiorenza

María C. Travella

Marta D. Mudry

**Comité Científico**

Nelson Albiano

José A. Castro

Lucrecia Ferrari

Mirtha Nassetta

Marta M. Salseduc

**Órgano de Fiscalización**

Viviana V. Crapanzano

Mirta E. Ryczel

Claudia V. Vassena

**Tribunal de Honor**

Susana I. García

Irma Giolito

Augusto Piazza

**Acta Toxicológica Argentina**

**Director**

Adolfo R. de Roodt *INPB, ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"; FMed, UBA*

**Comité de Redacción**

Adriana S. Ridolfi, *Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA*

Aldo S. Saracco, *Fac. Ciencias de la Salud, UM; MSAL Gob. de Mendoza*

Fabiana L. Lo Nostro, *FCEN, UBA; CONICET*

Ricardo A. Fernández, *Hosp. Infantil Municipal, Cba; FMed, UCCor*

Susana I. García, *FMed, UBA; PRECOTOX, MSAL de la Nación*

Valentina Olmos, *Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA*

**Comité Editorial**

Alejandro Alagón, *Universidad Autónoma de México, México*

José A. Castro, *CITEFA, CONICET, Argentina*

Fernando Díaz Barriga, *Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México*

Heraldo N. Donnenwald, *Universidad Favaloro, Argentina*

Gina D'Suze, *IVIC, Venezuela*

Amalia Laborde, *Universidad de la República, Uruguay*

Bruno Lomonte, *Instituto Clodomiro Picado, Costa Rica*

Veniero Gambaro, *Università di Pavia, Italia*

Estela Giménez, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*

Nelly Mañay, *Universidad de la República, Uruguay*

José M. Monserrat, *Universidad de Río Grande, Brasil*

Irma R. Pérez, *Universidad Autónoma de México, México*

Haydée N. Pizarro, *CONICET, Argentina*

María del C. Ríos de Molina, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*

María M. Salseduc, *Laboratorios Bagó, Argentina*

Carlos Sèvcik, *IVIC, Venezuela*

Francisco O. de Siqueira França, *Instituto Butantan, Brasil*

Norma Vallejo, *SEDRONAR, Argentina*

Edda Villaamil Lepori, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*

Eduardo N. Zerba, *CIPEIN-CITEFA, CONICET, Argentina*

## **INDICE**

### **(CONTENTS)**

#### Artículos

Toxicidad en peces de herbicidas formulados con glifosato  
*Alvarez, María; Gimenez, Isabel T.; Saitua, Hugo; Enriz, Ricardo D.; Giannini, Fernando A.* ..... 5

Evaluación ecotóxica y genotóxica de aguas residuales hospitalarias  
*Magdaleno, Anahí; Juárez, Ángela B.; Paz, Marta; Tornello, Carina; Núñez, Lidia; Moretton, Juan* ..... 14

Aspectos clínicos, epidemiológicos y de tratamiento de 11 casos de envenenamiento por  
ciempiés en Adicora, Península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela  
*Cazorla Perfetti, Dalmiro J.; Loyo Sivira, Jesús E.; Lugo Hernández, Lusneida N.; Acosta Quintero, María E.;  
Morales Moreno, Pedro* ..... 25

#### Caso clínico

Injuria pulmonar aguda en la intoxicación por ácido acetilsalicílico. Caso clínico y revisión  
bibliográfica  
*Di Nardo, Victoria A.; Cortese, Silvia; Risso, Marina; Damín, Carlos* ..... 34

#### Resúmenes de tesis

Exposición ocupacional a los agroquímicos. Evaluación del daño genético y su relación con  
procesos de estrés oxidativo  
*Simoniello, M. Fernanda* ..... 38

Desarrollo de metodologías de preconcentración/fluorescencia molecular: monitoreo  
ambiental y biológico de cadmio y níquel como marcadores de exposición y/o adicción  
al tabaco  
*Talio, María Carolina* ..... 39

Instrucciones para los autores ..... 41

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](http://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

## Toxicidad en peces de herbicidas formulados con glifosato Toxicity in fishes of herbicides formulated with glyphosate

Alvarez, Maria<sup>1</sup>; Gimenez, Isabel T.<sup>2</sup>; Saitua, Hugo<sup>1</sup>; Enriz Ricardo D.<sup>1</sup>; Giannini Fernando A.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Química General. Universidad Nacional de San Luis. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Chacabuco y Pedernera (5700) San Luis, Argentina. Tel.: 00-54-02664/4424689 int. 157. <sup>2</sup>Cátedra de Bioestadística Aplicada, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis.

\*fagian3@gmail.com

Recibido: 19 de octubre de 2011

Aceptado: 5 de marzo de 2012

**Resumen.** En nuestro país existe una gran extensión de hectáreas cultivadas con soja transgénica, la misma ha sido modificada genéticamente para soportar la acción de un herbicida denominado glifosato. Debido a la gran cantidad de formulaciones comerciales que incluyen glifosato es de importancia analizar el impacto ambiental producido por éstas.

La evaluación de la toxicidad aguda de dos herbicidas comerciales formulados con glifosato y de una solución del mismo; frente a peces de la especie *Poecilia reticulata* "lebitest" acusa que una de las soluciones produce mortalidad del 100 % de los especímenes a 100 µl/l (equivalente a 48 mg/l de principio activo); la otra a 50 µl/l (equivalente a 24 mg/l de principio activo) y la solución formulada con glifosato puro no produce mortalidad aún a concentraciones de 400 mg/l.

Utilizando dosis sub letales en función de los datos obtenidos en el ensayo de toxicidad aguda se determinó que a largo plazo especímenes de *Cyprinus carpio haematopterus* "carpa koi", manifestaron severas alteraciones hematológicas principalmente frente a una de las formulaciones evaluadas.

**Palabras clave:** Glifosato; Coadyuvantes; Peces; Toxicidad

**Summary.** Nowadays, transgenic soya, modified in order to withstand the impact of the herbicide glyphosate, in one of the main crops grown in Argentina. Due to the large number of commercial formulations that include this drug, it is important to analyze both, the acute and chronic environmental impact that they cause. Here the acute toxicity of two commercial herbicides glyphosate-based toward the fish *Poecilia reticulata* "guppy" was evaluated and compared with pure glyphosate solutions. Interestingly, while commercial herbicides formulations induce a 100% of mortality at concentration ranged between 50 and 100 µl/l, the pure glyphosate does not present mortality even at doses higher than 400 mg/l. When some long term effects toward *Cyprinus carpio haematopterus* "koi" were determined by using the sub-lethal doses already calculated it was demonstrated that one of the commercial herbicides induces severe haematological alterations.

**Keywords:** Glyphosate, Excipients, Fish, Toxicity

### INTRODUCCIÓN

A nivel mundial y desde el año 1984 se utiliza el concepto de "desarrollo sustentable", entendiéndose por esto a la vinculación del desarrollo con factores como los recursos humanos, la alimentación, las especies, los ecosistemas, la energía y la industria. En nuestro país desde hace ya bastante tiempo, investigadores del INTA y del CONICET han aconsejado plantear la producción agropecuaria en términos de agro ecosistemas mencionando la necesidad de no tratar el sistema agropecuario como algo separado del sistema ecológico.

La Argentina es un país productor y exportador de materias primas e insumos agrícolas siendo la soja uno de los más importantes.

Esta oleaginosa presenta en la actualidad un gran interés por ser un producto de gran valor económico. Gran parte de esta producción es exportada como grano, siendo los países asiáticos los principales compradores.

Para aumentar el rendimiento se emplean variedades transgénicas que son resistentes a un herbicida denominado glifosato, esto ha colaborado para que en ciertas regiones, el glifosato se transforme en un compuesto utilizado en forma extensiva con la finalidad de controlar las malezas durante el ciclo del cultivo de soja. Este empleo masivo y descontrolado ha ocasionado preocupación en las poblaciones urbanas respecto de los riesgos toxicológicos

de este plaguicida, especialmente en las áreas limítrofes con la zona rural.

El glifosato o N-(fosfonometil) glicina es una sustancia altamente soluble en agua (10.500 mg/l) con un tiempo de vida media en agua de entre 3,5 y 70 días. Su acción herbicida se debe a su capacidad para inhibir la 5-enolpiruvilshikimatofosfosintasa (Mallory-Smith y Ratzinger 2003), enzima que interviene en la biosíntesis de aminoácidos aromáticos en vegetales.

Además de este principio activo, las formulaciones contienen otras sustancias para aumentar su eficacia como el surfactante polioxietileno-amina (POEA); existiendo evidencias de que estos coadyuvantes son los principales responsables de las características tóxicas de los productos comerciales (Folmar y col. 1979; Domínguez Cortinas y col. 2008).

Los peces han sido utilizados desde hace mucho tiempo como modelos biológicos experimentales para medir el impacto ambiental de diferentes sustancias (Slooff y col. 1983; Ba-

llesteros y col. 2009; Lushchak y col. 2009). Puntualmente, nuestro grupo de trabajo los utiliza para evaluar la potencial toxicidad de diferentes noveles drogas de origen natural y/o sintético (Bisogno y col. 2007; Mascotti y col. 2008; Garibotto y col. 2010).

El objetivo de este trabajo ha sido determinar los efectos de la toxicidad aguda y crónica en peces de dos herbicidas comerciales formulados con glifosato y de una solución de glifosato puro. Para evaluar la toxicidad aguda se registró el parámetro "mortalidad" utilizando como modelo experimental *Poecilia reticulata* "lebetes" (Figura 1a); para el caso de la toxicidad crónica se utilizaron dosis subletales según resultados de la experiencia anterior y se evaluaron parámetros somáticos (factor de condición), histológicos (aspectos microscópicos de las branquias), biomarcadores bioquímicos (uremia y transaminasas) y hematológicos (hematocrito y extendidos) utilizando como modelo experimental *Cyprinus carpio haematopterus* "carpa koi" (Figura 1b).



Figura 1a. *Poecilia reticulata* "lebetes".



Figura 1b. *Cyprinus carpio haematopterus* "carpa koi".

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Formulaciones y soluciones utilizadas

Se seleccionaron dos formulaciones comerciales de herbicidas, presentes en el mercado nacional, cuyo principio activo es glifosato. La formulación A es un herbicida utilizado en jardinería (Glacoxan®), por lo tanto de uso no extensivo; la formulación B es un herbicida de uso en agricultura (Round-Up®), por lo tanto extensivo; ambas fueron adquiridas en comercios de la provincia de San Luis y poseen una concentración del principio activo del 48% p/v. Con cada una de estas formulaciones se realizaron las correspondientes soluciones, diluyendo directamente las mismas en el agua que se les colocó a los peces. La solución C fue preparada con Glifosato puro STD (máxi-

ma pureza) 99,7% provisto por Monsanto Argentina. Se disolvieron 180 mg de principio activo en 300 ml de agua destilada para formar una solución madre, la cual se diluyó para realizar el ensayo.

Las características de estas soluciones se presentan en la *Tabla 1*.

### Ensayos de toxicidad aguda

Se utilizó la técnica recomendada por la U.S. Fish and Wildlife Service (Johnson y Finley 1980) que ha sido modificada para utilizar una menor cantidad de compuestos a ensayar, según Mascotti y col. (2008). El efecto tóxico de los compuestos se evaluó en peces de la especie *Poecilia reticulata* "lebetes", criados en nuestro laboratorio, de 0,7 a 1 cm de largo y

**Tabla 1.** Características físico químicas de las formulaciones y soluciones evaluadas.

| Propiedad                  | Herbicida A         | Herbicida B                       | Solución C    |
|----------------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------|
| Concentración de glifosato | 48 % (480 g/l)      | 48 % (480 g/l)                    | 0,6 % (6 g/l) |
| Principio activo Informado | Sal isopropilamina  | Sal isopropilamina                | glifosato     |
| Excipientes                | posee; no informado | POEA isopropilamina Ac. orgánicos | no posee      |
| pH                         | 5,5                 | 6                                 | 7             |
| Color                      | ambar               | ambar                             | incolore      |
| Transparencia              | transparente        | transparente                      | transparente  |

de 15 a 20 días de vida. Diez peces se expusieron a cada concentración del compuesto a ensayar, usando cinco concentraciones por cada prueba de toxicidad (en un rango de 100 µl/l a 6,25 µl/l). Las soluciones y los organismos se colocaron en un recipiente de 1 litro donde se mantuvieron hasta el final de las evaluaciones. Se contabilizó el número de organismos muertos en cada recipiente que se retiraron cada 24 hs. El porcentaje de mortalidad se evaluó cada 96 h. Se determinó para cada formulación comercial evaluada la mínima concentración de formulado que produjo el 100% de mortalidad (MC100%M) y la máxima concentración que no produjo mortalidad (MC0%M).

#### Ensayos de toxicidad crónica

Especímenes criados en cautiverio de *Cyprinus carpio haematopterus* "carpa koi" de 5-6 meses de vida fueron colocados en recipientes de 12 litros durante un período de 45 días. Se colocaron 2-3 especímenes por recipiente (relación de 1 espécimen por cada 4-6 litros de agua) y se mantuvieron a temperatura ambiente con aireación controlada y alimentación estandarizada. Cada grupo se expuso a dosis subletales considerando tales a la máxima concentración que no produjo mortalidad (MC0%M) en los ensayos de toxicidad aguda. Se utilizó además un grupo control no expuesto a ningún herbicida. Al finalizar el período de evaluación se determinaron los siguientes parámetros:

**a-** Variación del factor de condición (FC): se determinó según la expresión matemática:  $FC = P/L^3$  donde P es el peso en gramos y L la longitud en cm. Las variables peso y longitud se determinaron con balanza electrónica y ca-

libre digital.

**b-** Parámetros bioquímicos: se utilizó un método enzimático específico para la determinación cuantitativa de urea en sangre (Uremia, Wiener) y un método colorimétrico para la determinación de la actividad de Transaminasa Glutámico Pirúvica (GPT) en suero utilizando kits enzimáticos comerciales (Transaminasas 200, Wiener).

**c-** Parámetros hematológicos (hematocrito) y estudio morfológico de las células sanguíneas por extendido:

**c<sub>1</sub>** - Hematocrito: se determinó por centrifugación de sangre heparinizada, en un tubo capilar, a 10.000 rpm durante cinco minutos.

**c<sub>2</sub>** - Extendidos: para la realización del extendido de sangre, ésta fue obtenida por lesión de las branquias. Se aplicó la coloración de May Grunwald-Giemsa, la cual se efectuó de la siguiente forma: a cada extendido se lo cubrió con el colorante May-Grunwald puro durante 3 minutos, luego se lo enjuagó con agua destilada 1 minuto y se lo cubrió con colorante de Giemsa diluido al décimo en agua destilada durante 90 minutos y finalmente se lo enjuagó con agua destilada.

**d-** Parámetros histológicos

Se evaluó el estado de las branquias por medio de imágenes microscópicas tomadas por fotografía digital inmediatamente después de haber sacrificado a los especímenes; las imágenes fueron tomadas con un microscopio Digital SuperEyes, Modelo A002.

En todos los casos los resultados obtenidos fueron comparados con los del grupo control.

### Análisis estadísticos

Para los resultados de toxicidad aguda se aplicó el método *Chi* cuadrado para analizar y comparar las frecuencias entre los porcentajes de mortalidad provenientes de las tablas de toxicidad aguda de las soluciones A y B frente a peces.

Para las comparaciones entre las mínimas dosis que producen mortalidad del 100% y las máximas dosis que no produce mortalidad se aplicó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, ya que los resultados no se distribuyeron en forma normal.

Sobre los resultados de toxicidad crónica se aplicó una estadística no paramétrica, mediante los test de Kruskal Wallis y posterior comparación mediante el test de Dunn para un grado de significancia del 95%. Se utilizó el software estadístico Statistx 8.0.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Toxicidad aguda de las formulaciones A, B y C frente a peces

Se evaluaron concentraciones decrecientes de las dos formulaciones comerciales (A y B) partiendo de una concentración de 100 µl/l de la formulaciones comerciales y diluyendo las mismas hasta encontrar la concentración que no producía mortalidad. La solución de glifosato técnico pura (solución C) se evaluó a partir de una concentración de principio activo de 100 mg/l y se fue aumentando hasta 400 mg/l. Los resultados obtenidos se muestran en la *Tabla 2*.

Se determinó que el herbicida B es, al menos, cuatro veces más tóxico que el herbicida A y que la solución del principio activo no resultó tóxica, aun a valores de hasta 400 mg/l; estos

**Tabla 2.** Toxicidad aguda de las formulaciones comerciales evaluadas y de la solución de sal técnica de glifosato.

| Tubo    | Concentración formulación (µl/l) | Concentración principio activo (mg/l) | Mortalidad 96 h (%) |
|---------|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------|
| A1      | 100                              | 48                                    | 100                 |
| A2      | 50                               | 24                                    | 0                   |
| B1      | 100                              | 48                                    | 100                 |
| B2      | 50                               | 24                                    | 100                 |
| B3      | 25                               | 12                                    | 100                 |
| B4      | 12,5                             | 6,25                                  | 0                   |
| C1      | -                                | 100                                   | 0                   |
| C2      | -                                | 200                                   | 0                   |
| C3      | -                                | 400                                   | 0                   |
| Control | -                                | -                                     | -                   |

A1: dilución inicial B1: dilución inicial

resultados concuerdan con estudios reportados que demuestran la implicancia de los excipientes de las formulaciones comerciales en los efectos de la toxicidad de las mismas (Servizi y col. 1987).

### Análisis estadísticos

La diferencia en la toxicidad aguda frente a peces es altamente significativa entre las concentraciones de 100 µl/l y 50 µl/l para la solución preparada de la formulación A con un  $P \leq 0,0001$ .

#### Toxicidad crónica de las formulaciones A, B y C frente a peces

Muchos efectos tóxicos producidos por diversas sustancias sobre los organismos no se manifiestan de forma inmediata; pero son suficientes para modificar la biología de éstos llegando incluso a condicionar su posibilidad de sobrevivir. Estos efectos se pueden evaluar utilizando diferentes biomarcadores

Para analizar estos efectos fue necesario un cambio de modelo biológico experimental debido a la necesidad de disponer de especímenes de tamaño mayor para poder evaluar

los parámetros bioquímicos y hematológicos propuestos.

#### Variación del factor de condición (FC)

Este factor puede indicar el estado nutricional de los organismos y es útil para comparar y cuantificar numéricamente la condición o estado en que el pez se encuentra. En una primera etapa se determinó para cada espécimen su FC (FC día 0) y al finalizar la experiencia se

determinó nuevamente (FC día 45). Se determinaron cuantitativamente las diferencias obtenidas; los resultados se presentan en la *Tabla 3*. En líneas generales y observando los valores de FC al día 0 vs. día 45 pudo observarse que todos los individuos habían desmejorado su condición; estando en estas condiciones los del grupo control no se pudo atribuir este déficit a algún efecto de las soluciones, quizás se debió a variaciones individuales.

**Tabla 3.** Variación del FC en peces y de las variables que lo determinan al inicio y final de la experiencia.

| Control   |           |      |                |       |        |        |
|-----------|-----------|------|----------------|-------|--------|--------|
| Espécimen | Peso en g |      | Longitud en cm |       | FC     |        |
|           | Pre       | Post | Pre            | Post  | Pre    | Post   |
| 1         | 37,5      | 37,3 | 10,4           | 11,73 | 0,0333 | 0,0231 |
| 2         | 38,9      | 38,7 | 11,5           | 11,88 | 0,0255 | 0,0230 |

| Solución A |           |       |                |       |        |        |
|------------|-----------|-------|----------------|-------|--------|--------|
| Espécimen  | Peso en g |       | Longitud en cm |       | FC     |        |
|            | Pre       | Post  | Pre            | Post  | Pre    | Post   |
| 1          | 19,37     | 19,54 | 8,05           | 8,129 | 0,0371 | 0,0363 |
| 2          | 41,05     | 38,10 | 11,25          | 12,1  | 0,0288 | 0,0215 |
| 3          | 13,88     | 14,67 | 7,6            | 8,121 | 0,0316 | 0,0273 |

| Solución B |           |       |                |      |        |        |
|------------|-----------|-------|----------------|------|--------|--------|
| Espécimen  | Peso en g |       | Longitud en cm |      | FC     |        |
|            | Pre       | Post  | Pre            | Post | Pre    | Post   |
| 1          | 23,46     | 24,96 | 9,1            | 9,5  | 0,0311 | 0,0291 |
| 2          | 56,99     | 57,40 | 13,4           | 13,5 | 0,0236 | 0,0233 |

| Solución C |           |       |                |      |        |        |
|------------|-----------|-------|----------------|------|--------|--------|
| Espécimen  | Peso en g |       | Longitud en cm |      | FC     |        |
|            | Pre       | Post  | Pre            | Post | Pre    | Post   |
| 1          | 36,86     | 34,59 | 11,2           | 11,7 | 0,0262 | 0,0215 |
| 2          | 46,27     | 45,41 | 12,6           | 13,9 | 0,0231 | 0,0169 |

Analizando un comparativo del parámetro peso se vio que en todos los casos disminuyó, contrario a lo que sucede con la longitud. Los valores de FC se analizaron mediante metodología indicada, no encontrándose diferencias significativas entre ellos para un grado de significación del 95%.

#### Parámetros bioquímicos (urea y GPT en sangre) y hematológicos

Los resultados obtenidos en la evaluación de los parámetros bioquímicos se presentan en la *Tabla 4*.

Urea en sangre

La urea es el resultado final del metabolismo

de las proteínas. Se forma en el hígado y es eliminada por la orina o sistema excretor. Un aumento indica mal funcionamiento del sistema excretor y una disminución está asociada a una incorrecta absorción de nutrientes proteicos (Henry 1993).

Los resultados muestran que los grupos de especímenes sometidos a soluciones de herbicidas comerciales formulados con Glifosato (A y B) presentaron valores bajos de uremia, comparados con el grupo control; esto podría estar indicando una deficiente absorción fun-

**Tabla 4.** Parámetros hematológicos y bioquímicos obtenidos en peces luego de 45 días de exposición frente a las soluciones evaluadas.

| <b>Control</b>    |                    |                     |                           |
|-------------------|--------------------|---------------------|---------------------------|
| <b>Espécimen</b>  | <b>Hematocrito</b> | <b>Uremia (g/l)</b> | <b>Transaminasa (U/l)</b> |
| <b>1</b>          | 32 %               | 0,19                | 98                        |
| <b>2</b>          | 30 %               | 0,17                | 96                        |
| <b>Solución A</b> |                    |                     |                           |
| <b>Espécimen</b>  | <b>Hematocrito</b> | <b>Uremia (g/l)</b> | <b>Transaminasa (U/l)</b> |
| <b>1</b>          | 20 %               | 0,091               | 101                       |
| <b>2</b>          | 21,5 %             | 0,082               | 108                       |
| <b>Solución B</b> |                    |                     |                           |
| <b>Espécimen</b>  | <b>Hematocrito</b> | <b>Uremia (g/l)</b> | <b>Transaminasa (U/l)</b> |
| <b>1</b>          | 31 %               | 0,064               | 91                        |
| <b>2</b>          | 33 %               | 0,052               | 84                        |
| <b>Solución C</b> |                    |                     |                           |
| <b>Espécimen</b>  | <b>Hematocrito</b> | <b>Uremia (g/l)</b> | <b>Transaminasa (U/l)</b> |
| <b>1</b>          | 24 %               | 0,17                | 104                       |
| <b>2</b>          | 24 %               | 0,21                | 129                       |

damentalmente de las proteínas del alimento. El grupo sometido a la Solución C no presentó diferencias significativas respecto del grupo control.

Los valores de uremia se analizaron mediante la metodología indicada, encontrándose diferencias significativas entre los grupos de ensayo sometidos a las soluciones A y B versus el grupo control ( $p \leq 0.001$ ). Por comparaciones posteriores por el test de Dunn se encontró que los valores correspondientes a la solución C no difirieron del control; pero si existieron diferencias entre los valores de la solución A y B respecto del control y fueron semejantes entre ellos.

Transaminasa glutámico pirúvica (GPT)

Las transaminasas son enzimas ampliamente difundidas en el organismo. La actividad sérica en condiciones normales es baja o nula. Una destrucción en los tejidos en los cuales están presentes conduce a un aumento en los niveles séricos. Puntualmente, la pirúvico transaminasa o GPT es una enzima utilizada para evaluar el funcionamiento hepático. Su concentración elevada en sangre le confiere cierta especificidad en el diagnóstico de daños tóxicos hepáticos (Ióvine Selva 1990)

Los resultados mostraron que no existieron diferencias significativas entre los grupos evaluados.

Los valores de transaminasa se analizaron mediante metodología indicada, no encontrándose diferencias significativas para un grado de significación del 95%.

#### Hematocrito

Es el porcentaje del volumen total de sangre compuesto de glóbulos rojos. Es una medición determinada por el tamaño y número de glóbulos rojos.

En los resultados se pudo observar cómo el valor de hematocrito disminuyó en presencia de la solución A y de la solución C; esto podría deberse a un mal funcionamiento en la génesis de glóbulos rojos.

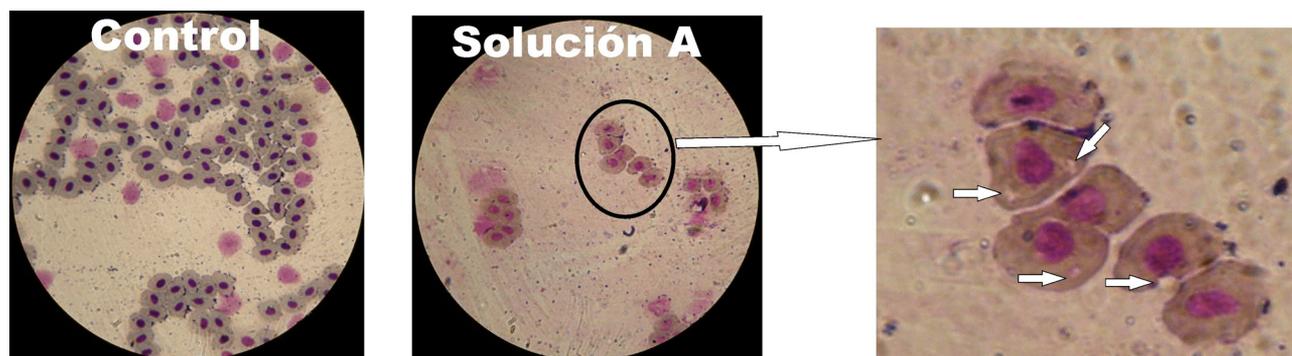
Los valores de hematocrito se analizaron mediante la metodología indicada, encontrándose diferencias significativas. Por comparaciones posteriores por el test de Dunn se encontró que los valores correspondientes a la solución preparada con la formulación B no difirieron del control; pero si existieron diferencias entre los valores de la solución preparada con

la formulación A y la solución C respecto del control y fueron semejantes entre ellos.

#### Extendido de sangre

El estudio de la morfología y estructura de células sanguíneas ha sido utilizado e informado por diferentes autores como indicador de los efectos tóxicos de la acción de diversos herbicidas formulados con glifosato (Tolga y Konec 2007). Este estudio se realiza por medio de la observación microscópica de las preparaciones coloreadas, con el objetivo de distinguir estructuras citoplásmicas (generalmente de aspecto granular, como vacuolas y lisosomas) que por sus características bioquímicas se tiñen diferencialmente.

La *Figura 2* corresponde a extendidos de individuos sometidos a la solución A, donde se observaron eritrocitos con regular cantidad de vacuolas citoplásmicas siendo éstas indicadores de toxicidad hematológica. El resto de los grupos evaluados no presentó estas características, al igual que el grupo control.



**Figura 2.** Extendidos del grupo control y del grupo sometido a dosis subletales de formulación A, presencia de vacuolas citoplásmicas indicada por las flechas.

#### Imágenes microscópicas de las branquias

Los efectos observados en células y tejidos constituyen un importante parámetro a ser considerado en la evaluación de un potencial tóxico sobre los organismos vivos (Fent 1996). Las características histopatológicas de algunos órganos como las branquias pueden reflejar condiciones ambientales y tiempos de exposición de los especímenes frente a determinados tóxicos (Schmalz y col. 2002). Las branquias de los peces están formadas por capilares a través de los cuales se produce el intercambio gaseoso que permite la respira-

ción de los peces. La histopatología de ella es un importante biomarcador, debido a que al estar en contacto directo y constante con el medio se considera un tejido vulnerable a la calidad del medio ambiente.

En la *Figura 3* se presentan imágenes seleccionadas de un individuo de cada grupo de ensayo. Se observan alteraciones importantes en las branquias del grupo sometido a la solución A, pudiendo observarse coágulos internos; estos no están presentes en el grupo sometido a la solución B, a la solución C ni en el grupo control.

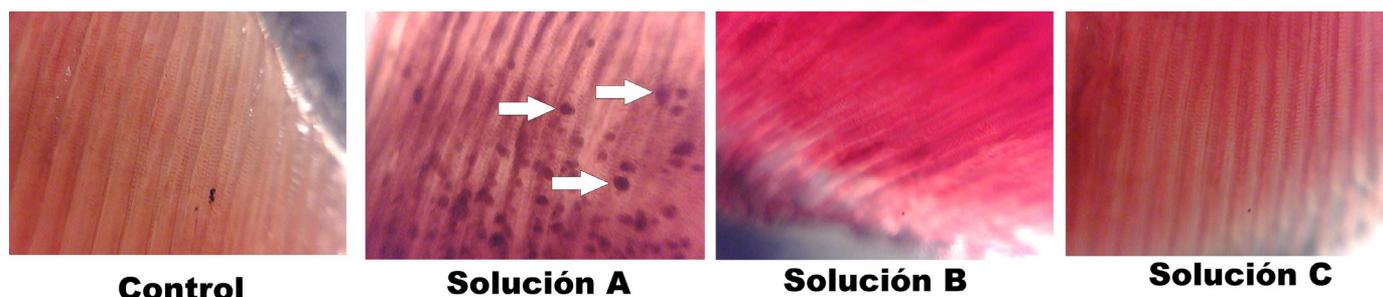


Figura 3. Imágenes de las branquias correspondientes a individuos de cada grupo evaluado, presencia de coágulos indicados por las flechas.

### CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el ensayo de toxicidad aguda demostraron que las formulaciones comerciales evaluadas son tóxicas aun a bajas concentraciones, siendo la formulación B la más tóxica, provocando un 100% de mortalidad aún a valores de 25  $\mu\text{l/l}$  de formulación comercial, equivalente a 12 mg/l de sal de glifosato. Se determinó también que, aún a concentraciones altas (hasta 400 mg/l), el glifosato puro no presentó estos efectos. En función del análisis comparativo de los valores de mortalidad obtenidos en el test utilizado queda demostrado que los excipientes juegan un rol fundamental en la toxicidad aguda.

Las dosis subletales también produjeron efectos tóxicos principalmente a nivel hematológico. Acusaron, además, alteraciones bioquímicas. La formulación A fue la que produjo mayores efectos en los parámetros mencionados. Esta misma solución fue la responsable de la formación de microcoágulos en las branquias (nivel histológico). La solución C no produjo alteraciones hematológicas e histológicas pero sí bioquímicas. Esto permite suponer que las dosis subletales de herbicidas formulados con glifosato tienen efectos a largo plazo, principalmente a nivel hematológico e histológico frente al modelo experimental utilizado.

### BIBLIOGRAFÍA CITADA

Ballesteros M.L., Wunderlin D.A., Bistonía M.A. Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan. *Ecotox. Environ. Safe.* 2009;72:199-205.

Bisogno F., Mascotti L., Sanchez C., Garibotto F., Giannini F., Kurina-Sanz M., Enriz R. Structure-antifungal activity relationship of related cinnamic acid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 2007;55 (26):10635-10640.

Domínguez Cortinas G., Mejía Saavedra J., Santos Medrano G.E., Martínez R.R. Analysis of the toxicity of glyphosate and Faena® using the freshwater invertebrates *Daphnia magna* and *Lecane quadridentata*. *Environ. Toxicol. Chem.* 2008;90(2):377-384.

Fent K. Ecotoxicology of organotin compounds. *Critical Reviews in Toxicology.* 1996;26(1):3-10.

Folmar L.C., Sanders H.O., Julin A.M. Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1979;8:269-278.

Garibotto F.M., Garro A.D., Masman M.F., Rodríguez A.M., Luiten P.G.M., Raimondi M., Zacchino S.A., Somlai C., Penke B., Enriz R.D. New small-size peptides possessing antifungal activity. *Bioorg. Med. Chem.* 2010;18:158-167.

Henry J.B. Diagnóstico y Tratamientos Clínicos. 9ª ed. Nueva York: Masson- Salvat Medicina, 1993.

Ióvine Selva- Ióvine. El laboratorio en el diagnóstico de la enfermedad. 6ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1990.

Johnson W.W., Finley M.T. Handbook of Acute Toxicity of Chemicals to Fish and Aquatic Invertebrates. Washington D.C.: United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service. Resource Publication 137, 1980.

Lushchak O.V., Kubrak O.I., Storey J.M, Storey K.B., Lushchak V.I. Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish

tissues. *Chemosphere*. 2009;76:932-937.

Mallory-Smith C.A., Ratzinger E.J.Jr. Revised classification of herbicides by sites of action for weed resistance management Strategies. *Weed Technol.* 2003;17(3):605-619.

Mascotti M.L., Enriz R.D., Giannini F.A. Acute toxicity study of commercial antifungal drugs using *Poecilia reticulata*. *Lat. Am. J. Pharm.* 2008;27(6):904-905.

Schmalz W.F., Hernandez A.D., Weis P. Hepatic histopathology in two populations of the mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *Mar. Environ. Res.* 2002;54:539-542.

Servizi J.A., Gordon R.W., Martens D.W. Acute toxicity of Garlon 4 and Roundup herbicides to salmon, daphnia and trout. *Environ. Contam. Toxicol.* 1995;33:355 - 361.

Slooff W., De Zwart D., Van de Kerkhoff J. Monitoring the rivers rhine and meuse in the Netherlands for toxicity. *Aquat. Toxicol.* 1983;4(2):189-198.

Tolga C. Konen S. Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral erythrocytes of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to a glyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay. *Mutagenesis.* 2007;22(4):263-268.

## Evaluación ecotóxica y genotóxica de aguas residuales hospitalarias Ecotoxicological and genotoxic evaluation of hospital wastewaters

Magdaleno, Anahí\*<sup>1</sup>; Juárez, Ángela B.<sup>2</sup>; Paz, Marta<sup>1</sup>; Tornello, Carina<sup>1</sup>; Núñez, Lidia<sup>1</sup>; Moretton, Juan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Higiene y Sanidad, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junin 956, 4° Piso, C1113AAC, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental y Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

\* amagda@ffyb.uba.ar

Recibido: 20 de diciembre de 2011  
Aceptado: 30 de mayo de 2012

**Resumen.** Los líquidos residuales provenientes de hospitales constituyen un riesgo potencial para los ecosistemas y la salud humana debido a la presencia de compuestos tóxicos y genotóxicos. El objetivo de este trabajo fue analizar la toxicidad y la genotoxicidad de los efluentes provenientes del Hospital de Clínicas José de San Martín (Buenos Aires). Las muestras del efluente se tomaron durante los días y horarios de mayor actividad del hospital y se separaron en dos fracciones: acuosa y orgánica (extractos). Los ensayos de toxicidad se realizaron en la fracción acuosa utilizando dos especies de algas verdes: *Pseudokirchneriella subcapitata* y *Chlorella vulgaris*. La genotoxicidad se evaluó en las dos fracciones mediante el ensayo de *Salmonella*/microsomas en ausencia y presencia de mezcla S9, utilizando las cepas TA98 y TA100. Veintinueve muestras de un total de 53 muestras analizadas resultaron tóxicas para *P. subcapitata* (entre 18 y 55 % de inhibición), mientras que sólo 8 muestras lo fueron para *C. vulgaris* (entre 21 y 50 % de inhibición). Ninguna de las muestras resultó genotóxica para *Salmonella*, ni en los extractos ni en las fracciones acuosas. De los tres ensayos utilizados, *P. subcapitata* fue el más sensible, siendo el ensayo más apropiado para el monitoreo de estos efluentes.

**Palabras claves:** Efluentes hospitalarios; *P. subcapitata*; *C. vulgaris*; Test de Ames.

**Abstract.** Wastewaters from hospitals constitute a potential risk to the ecosystems and human health due to the presence of toxic and genotoxic chemical compounds. The objective of this work was to analyze the toxicity and genotoxicity of wastewaters from the "Hospital de Clínicas José de San Martín" (Buenos Aires). Wastewater samples were obtained during the days and hours of major hospital activities and they were separated into two fractions: aqueous and organic (extracts). The toxicity assays were performed for the aqueous fraction using the green algae species: *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlorella vulgaris*. Genotoxicity was assessed for the two fraction samples using the *Salmonella*/microsome assay in presence and in absence of S9 mix, with the strains TA98 and TA100. Twenty nine of the 53 total analyzed samples were toxic to *P. subcapitata* (between 18 and 55 % inhibition), whereas only 8 samples were toxic to *C. vulgaris* (between 21 and 50 % inhibition). None of the samples resulted genotoxic to *Salmonella*. Of the three tests used, *P. subcapitata* was the most sensible, resulting in the most suitable species to be used in hospital wastewaters monitoring.

**Keywords:** Hospital wastewaters; *P. subcapitata*; *C. vulgaris*; Ames Test.

### INTRODUCCIÓN

Los líquidos residuales generados en los centros de salud contienen una amplia variedad de sustancias químicas, entre las que se encuentran varios productos farmacéuticos no metabolizados o parcialmente metabolizados por los pacientes, radioisótopos, solventes y desinfectantes, los cuales son utilizados en internación, y en actividades de diagnóstico, desinfección e investigación (Kümmerer 2001; Emmanuel y col. 2005). Uno de los principa-

les problemas ambientales causados por los efluentes hospitalarios es su descarga en los sistemas cloacales urbanos sin un tratamiento previo y, finalmente, en las aguas superficiales (Gupta y col. 2009). En la actualidad son bien conocidos los efectos tóxicos de varias concentraciones de fármacos y desinfectantes sobre los organismos acuáticos (Pro y col. 2003; Ferrari y col. 2004; Sano y col. 2005; Liu y col. 2011), muchas de las cuales podrían estar presentes en los líquidos residuales hos-

pitalarios constituyendo un riesgo potencial para el balance biológico natural de los ecosistemas acuáticos (Santos y col. 2010). En particular, las algas fotosintéticas son de importancia en estos ecosistemas, ya que representan la base de la cadena trófica y cualquier alteración en la abundancia y composición de esta comunidad puede ocasionar efectos severos en los organismos de niveles superiores (por ejemplo, el zooplancton herbívoro). Una reciente revisión destaca la importancia de las algas fitoplanctónicas en la detección de los efectos ecotoxicológicos de bajas concentraciones de algunos fármacos encontrados en muestras ambientales (Blaise y col. 2006).

La genotoxicidad producida por los efluentes hospitalarios ha sido bien documentada (Ohe y col. 2004; Jolibois y Guerbet 2005; Ferk y col. 2009; Gupta y col. 2009;), generalmente mediante el ensayo de Ames que utiliza cepas mutadas de *Salmonella typhimurium* (Maron y Ames 1983). Las drogas antineoplásicas (citostáticos), por ejemplo, tienen una baja biodegradabilidad en el ambiente (Kümmerer y col. 2000) y son capaces de interferir en la estructura y función del ADN produciendo efectos citotóxicos, genotóxicos, mutagénicos, carcinogénicos o teratogénicos en los organismos (Kümmerer y col. 2000; Jolibois y col. 2003; Zounkova y col. 2010). Asimismo, los antibióticos merecen una especial atención debido a su actividad biológica y potencial ecotoxicológico sobre varios organismos, tales como las algas y los microcrustáceos, afectando el crecimiento y los procesos fisiológicos (Berto y col. 2009; Turkdogan y Yetilmezsoy 2009; Liu y col. 2011).

En el área de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, las aguas residuales procedentes de los centros de salud son vertidas directamente al sistema cloacal, sin un proceso de tratamiento previo. Esta mezcla de líquidos cloacales es direccionada hacia el Río de la Plata a través del sistema cloacal municipal, alcanzando una dilución por arrastre (Instituto Nacional del Agua 2011) cuyos efectos ecotoxicológicos son difíciles de predecir. Este río es la principal fuente de abastecimiento de agua potable para una población de aproximadamente 10 millones de habitantes; por este motivo, es de suma importancia efectuar aportes para el estudio de los riesgos que podrían representar los contaminantes presentes en los efluentes hospitalarios sobre este sistema fluvial.

Para realizar este trabajo se utilizó agua cloacal proveniente del Hospital de Clínicas José de San Martín, Hospital Escuela de la Universidad de Buenos Aires, que cuenta con 130.000 metros cuadrados cubiertos de superficie. Es un hospital de alta complejidad, con un ámbito geográfico de acción muy amplio, cuyos pacientes son habitantes de la Ciudad de Buenos Aires y de los municipios vecinos. El número de camas-día disponibles para el uso de pacientes internados, actualmente es de 401 camas. El consumo de agua por día, estimado por la comisión de ingeniería del hospital teniendo en cuenta el volumen del tanque reservorio, es de aproximadamente 705 metros cúbicos (Paz y col. 2004).

Debido a que las aguas residuales de los hospitales pueden contener diferentes compuestos químicos que afecten de manera indirecta a los ecosistemas acuáticos, tal como lo describen diferentes autores (Jolibois y Guerbet 2005; Gupta y col. 2009; Santos y col. 2010), es esperable que la mezcla compleja de compuestos pueda presentar efectos tóxicos y/o genotóxicos sobre el ambiente, aunque dichos compuestos se encuentren en pequeñas cantidades.

El objetivo de este trabajo fue analizar la ecotoxicidad y la genotoxicidad de los efluentes provenientes del Hospital de Clínicas José de San Martín mediante bioensayos de inhibición del crecimiento algal con dos especies de algas verdes (*Pseudokirshneriella subcapitata* y *Chlorella vulgaris*) y ensayos de genotoxicidad con *Salmonella typhimurium* (Test de Ames).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Toma de las muestras

El sitio de toma de las muestras fue la cámara cloacal ubicada en el sector Azcuénaga del Hospital de Clínicas José de San Martín que corresponde a los servicios de quirófanos, trasplante, quimioterapia, hematología, infectología, laboratorio de inmunogenética y farmacia (Paz y col. 2004). Debido a la variabilidad en la composición, caudal y concentración del líquido cloacal durante el día, se tomaron muestras sucesivas con intervalos de 2 horas entre las 9 y las 15 horas, que es la franja horaria de mayor actividad del hospital. Los muestreos se realizaron mensualmente entre marzo y septiembre de 2010, durante los cinco días hábiles de la semana. Se colectaron 2 litros de efluente hospitalario en cada horario, los que luego se mezclaron y homogeneizaron

para obtener una muestra compuesta representativa de 8 litros, correspondiente a cada día. Se midió el cloro residual de las muestras de cada horario *in situ*, mediante el método DPD (N,N-dietil-para-fenilendiamina) (American Public Health Association y col. 1992). En aquellos horarios en los que se midieron concentraciones de cloro residual, se separaron aproximadamente 600 ml adicionales de muestra (muestras individuales) para realizar los ensayos biológicos. En el laboratorio se midieron el pH y el cloro residual de la muestra compuesta de cada día. Alícuotas de 10 ml de cada muestra se filtraron a través de membranas de 0,22  $\mu\text{m}$  y se preservaron a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  para realizar los ensayos de toxicidad y genotoxicidad. Cantidades de 500 ml de efluente se utilizaron para extraer los compuestos no polares mediante pasaje a través de resinas de poliestireno XAD-2. Las resinas se eluyeron con 12 ml de éter etílico y la cantidad de éter se evaporó a presión reducida y a  $37\text{ }^\circ\text{C}$ , obteniendo un extracto etéreo. El residuo seco se reconstituyó en 5 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) (CAS N° 67-68-5), obteniendo así un extracto 100 veces más concentrado (Maron y Ames 1983; Siddiqui y Ahmad 2003). Estos extractos se preservaron a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  para realizar los ensayos de genotoxicidad.

### Ensayo con algas

Los ensayos de toxicidad se realizaron con las muestras filtradas (0,22  $\mu\text{m}$ ) utilizando dos especies de algas verdes: *P. subcapitata* y *C. vulgaris*. Se utilizó la metodología de microplacas de 96 pozos (Environmental Canada 2007), manteniendo los cultivos a  $22 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ , en agitación constante (100 revoluciones/min) y luz fluorescente "blanco-fría" (3000 luxes/ $\text{cm}^2$ ) continua. Los ensayos se realizaron con cuatro réplicas, en un volumen de 200  $\mu\text{l}$  por pozo de la muestra filtrada enriquecida previamente con nutrientes del medio algal Bold's Basal Medium (Archibald y Bold, 1970), y con una densidad algal inicial de  $5 \times 10^4$  células/ml obtenida a partir de cultivos en fase de crecimiento exponencial. El crecimiento algal luego del ensayo se estimó a las 96 horas mediante lecturas de absorbancia a 650 nm. Los controles crecieron en el medio Bold's Basal Medium. A partir de los resultados de absorbancia se calcularon los porcentajes de inhibición (%I) de aquellas muestras que mostraron diferencias significativas con respecto al control, según  $100 \times (\text{Control} - \text{Muestra})/\text{Control}$ .

### Ensayo de Ames

Para evaluar la genotoxicidad de las muestras, se utilizaron las cepas TA98 y TA100 de *S. typhimurium*, las cuales permiten determinar sustitución de pares de bases y corrimientos en el marco de lectura de la molécula de ADN, respectivamente. Se realizó el ensayo de incorporación en placa utilizando 2 ml de top agar fundido y mantenido a  $45\text{ }^\circ\text{C}$  en baño, al cual se agregaron sucesivamente 0,1 ml de la muestra a ensayar, 0,1 ml de un caldo de cultivo conteniendo entre  $10^7$  y  $10^8$  células/ml de la cepa bacteriana correspondiente y 0,5 ml de solución reguladora de fosfato ó 0,5 ml de fracción microsomal (mezcla S9). El contenido de los tubos así preparados se mezcló y volcó inmediatamente en placas de Petri que contenían sobre la superficie 15 ml de medio mínimo suplementado con glucosa y sales de Vogel-Bonner. Se analizaron las muestras filtradas y los extractos etéreos reconstituidos y concentrados 100 veces en DMSO (extractos). Los ensayos se realizaron con y sin mezcla S9, la cual fue preparada en el laboratorio según la técnica descrita por Mortelmans y Zeiger (2000). Como controles negativos se utilizó agua destilada estéril o DMSO, según la muestra a analizar, y como controles positivos se utilizaron 5  $\mu\text{g}$ /placa de azida sódica (AS) (CAS N° 26628-22-8) para la cepa TA100 y 10  $\mu\text{g}$ /placa de 2-aminofluorene (2AF) (CAS N° 153-78-6) para ambas cepas con fracción microsomal. El ensayo indica mutagenicidad cuando el número de unidades formadoras de colonias (UFC) en las placas conteniendo la muestra duplica las UFC en las placas del control.

### Análisis estadísticos

Los %I en los ensayos algales se calcularon para las muestras cuya densidad algal promedio mostró diferencias significativas con respecto al control ( $P < 0,05$ ) utilizando ANOVA de un factor (Sokal y Rohlf 1979). Para establecer las correlaciones entre los %I del crecimiento algal y la cantidad de cloro residual presente en las muestras, se utilizó la matriz de correlación de Pearson con un  $P < 0,05$ .

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH de las muestras fue siempre levemente ácido y cercano a 6,0. De las 53 muestras analizadas, 37 presentaron cloro residual en concentraciones que oscilaron entre 0,1 y 2,0 ppm (Tabla 1).

Los bioensayos algales permiten estimar tanto

**Tabla 1.** Porcentajes de inhibición del crecimiento algal (%I) obtenidos para *P. subcapitata* y *C. vulgaris* en las muestras compuestas y en las submuestras con cloro residual (ppm). En algunas muestras compuestas también se encontró cloro residual.

| Muestra compuesta | Cloro residual | %I <i>P. subcapitata</i> | %I <i>C. vulgaris</i> | Muestra individual | Cloro residual | %I <i>P. subcapitata</i> | %I <i>C. vulgaris</i> |
|-------------------|----------------|--------------------------|-----------------------|--------------------|----------------|--------------------------|-----------------------|
| Marzo             |                |                          |                       | Marzo              |                |                          |                       |
| Lunes             | ND*            | –                        | 50,41                 | Lunes 11 hs        | 0,7            | –                        | –                     |
| Martes            | ND             | –                        | –                     | Viernes 9 hs       | 0,4            | 37,61                    | –                     |
| Miércoles         | ND             | 46,70                    | –                     |                    |                |                          |                       |
| Jueves            | ND             | –                        | –                     |                    |                |                          |                       |
| Viernes           | ND             | –                        | –                     |                    |                |                          |                       |
| Abril             |                |                          |                       | Abril              |                |                          |                       |
| Lunes             | ND             | –                        | –                     | Lunes 9 hs         | 0,9            | 36,44                    | –                     |
| Martes            | ND             | –                        | –                     | Martes 15 hs       | 0,4            | –                        | –                     |
| Miércoles         | ND             | 44,52                    | –                     | Miércoles 9 hs     | 0,2            | 25,53                    | –                     |
| Jueves            | ND             | –                        | –                     | Jueves 15 hs       | 0,2            | –                        | –                     |
| Viernes           | ND             | –                        | –                     | Viernes 9 hs       | 0,4            | 27,78                    | –                     |
| Mayo              |                |                          |                       | Mayo               |                |                          |                       |
| Lunes             | 0,2            | 38,66                    | –                     | Lunes 11 hs        | 0,8            | 23,05                    | –                     |
| Martes            | ND             | 27,48                    | –                     | Miércoles 13 hs    | 1,2            | –                        | –                     |
| Miércoles         | 0,1            | 52,18                    | –                     |                    |                |                          |                       |
| Jueves            | ND             | 45,87                    | –                     |                    |                |                          |                       |
| Viernes           | ND             | –                        | –                     |                    |                |                          |                       |
| Junio             |                |                          |                       | Junio              |                |                          |                       |
| Lunes             | ND             | 28,15                    | –                     | Martes 9 hs        | 0,4            | 38,74                    | –                     |
| Martes            | 0,2            | –                        | –                     | Martes 11 hs       | 0,4            | 25,90                    | –                     |
| Miércoles         | 0,1            | 35,59                    | –                     | Martes 15 hs       | 0,4            | –                        | –                     |
| Jueves            | ND             | 37,91                    | –                     | Miércoles 9 hs     | 0,5            | –                        | –                     |
| Viernes           | 0,4            | 23,95                    | –                     | Viernes 9 hs       | 0,1            | 50,15                    | 31,30                 |
|                   |                |                          |                       | Viernes 15 hs      | 2,0            | –                        | –                     |
| Julio             |                |                          |                       | Julio              |                |                          |                       |
| Lunes             | 0,2            | 27,33                    | 22,42                 | Lunes 9 hs         | 1,0            | 18,62                    | 21,59                 |
| Martes            | 0,2            | 29,95                    | 25,83                 | Martes 9 hs        | 1,7            | 28,60                    | –                     |
| Miércoles         | ND             | 54,80                    | 33,99                 | Jueves 11 hs       | 0,6            | 36,56                    | 21,69                 |
| Jueves            | 0,3            | 29,43                    | –                     |                    |                |                          |                       |
| Viernes           | 0,1            | –                        | –                     |                    |                |                          |                       |
| Septiembre        |                |                          |                       | Septiembre         |                |                          |                       |
| Lunes             | 0,1            | 33,11                    | –                     | Lunes 11 hs        | 0,8            | –                        | –                     |
| Martes            | 0,1            | 25,98                    | –                     | Martes 15 hs       | 0,2            | –                        | –                     |
| Miércoles         | 0,1            | –                        | –                     | Miércoles 11 hs    | 0,2            | 43,24                    | –                     |
| Jueves            | 0,1            | –                        | –                     | Jueves 9 hs        | 0,2            | 44,22                    | 21,38                 |
| Viernes           | 0,1            | –                        | –                     | Viernes 11 hs      | 0,2            | –                        | –                     |

\*ND: no detectable.

la presencia de sustancias tóxicas que inhiben el crecimiento, como la presencia de sustancias, por ejemplo nutrientes, que lo estimulan (Miller y col. 1978). El crecimiento algal de *P. subcapitata* y *C. vulgaris* a las 96 horas de cultivo en las muestras compuestas mostró tanto inhibición como estimulación del crecimiento (Figura 1), lo cual revela la presencia de ciertos compuestos tóxicos, como así también la presencia de nutrientes (probablemente fosfatos provenientes de detergentes). La respuesta fue diferente para ambas especies de algas verdes, observándose mayor inhibición en el crecimiento de *P. subcapitata* con respecto a *C. vulgaris*. En los meses de mayo, junio y julio se observó mayor inhibición del crecimiento algal que en los otros tres meses debido a que se observaron diferencias significativas con respecto al control en la mayoría de los días hábiles ( $P < 0,05$ ). En cuanto a los días de la semana, en general los días lunes y miércoles mostraron una mayor toxicidad con respecto al resto, principalmente sobre *P. subcapitata* (Figura 1). De las 53 muestras totales analizadas, 29 resultaron tóxicas para *P. subcapitata*, cuyos %I oscilaron entre 18,62 y 54,80, mientras que sólo 8 muestras fueron tóxicas para *C. vulgaris*, cuyos %I oscilaron entre 21,38 y 50,41 (Tabla 1). Las muestras individuales tomadas en cada horario (entre las 9 y las 15 hs) en las que se encontró cloro residual, fueron analizadas separadamente, debido a que algunos compuestos tóxicos y genotóxicos, tales como el triclorometano y los organoclorados alifáticos y aromáticos podrían formarse por el contacto del hipoclorito de sodio (NaOCl) con la materia orgánica durante las tareas de limpieza (Emmanuel y col. 2004). Por otra parte, el hipoclorito de sodio puede resultar tóxico para varios organismos acuáticos, tales como microcrustáceos, peces y moluscos en concentraciones de hasta 1 mg/l, y modificar la composición específica de comunidades fitoplactónicas en concentraciones de entre 0,05 y 0,15 mg/l (Emmanuel y col. 2004).

Varias de las muestras que contenían cloro residual mostraron inhibición del crecimiento algal, especialmente en *P. subcapitata* (Figura 2). Sin embargo, no se observó una correlación positiva entre los valores de cloro residual y los %I obtenidos, lo cual indicaría que existen otros agentes tóxicos presentes en las muestras, diferentes a los que podrían producirse en presencia del cloro. Por otra parte, la concentración de cloro residual en las muestras

compuestas (en las que se mezclan las aguas colectadas en todos los horarios) se encuentra reducida o desaparece, sin embargo los %I, en muchos casos aumentan. Esto pudo observarse, por ejemplo, en los días miércoles de abril, miércoles y jueves de mayo y junio, y miércoles de julio (Tabla 1).

Las aguas residuales de establecimientos hospitalarios pueden contener compuestos capaces de dañar a la molécula de ADN, tales como ciertos desinfectantes (Monarca y col. 2000) y citostáticos (Kümmerer 2001; Zounkova y col. 2010) sin que esto signifique una violación a los protocolos establecidos en los hospitales. Ciertas cantidades de citostáticos no metabolizados y sus metabolitos son liberados a través de las excretas de los pacientes internados a las aguas cloacales (Heberer 2002). Por ejemplo, investigaciones realizadas en países desarrollados encontraron residuos de drogas citostáticas en concentraciones mayores a 1 µg/l así como efectos genotóxicos en muestras de efluentes hospitalarios (Jolibois y col. 2003; Jolibois y Guerbet 2005). Sin embargo, ninguna de las muestras del Hospital de Clínicas mostró genotoxicidad para *S. typhimurium*. Algunas muestras compuestas filtradas resultaron tóxicas para la cepa TA100 (Tabla 2): día viernes de mayo (sin mezcla S9), días jueves y viernes de julio (con mezcla S9), así como las muestras filtradas individuales con cloro residual (Tabla 3): lunes y miércoles de mayo (sin mezcla S9), lunes, martes y jueves de julio (con mezcla S9). La muestra clorada del jueves de julio también fue tóxica para TA98 con fracción microsomal. La mayoría de estas muestras también resultaron tóxicas para *P. subcapitata* (Tabla 1). De los extractos, solamente los obtenidos en las muestras compuestas del viernes de marzo, y lunes y martes de abril resultaron tóxicas para la cepa TA100 con fracción microsomal (Tabla 2).

Existen pocos datos documentados sobre los efectos combinados de fármacos en algas, pero en bacterias se han reportado efectos tóxicos sinérgicos de ciertos antibióticos con otras drogas de uso común en hospitales como los citostáticos (Kümmerer y Al-Ahmad 1997). No se descarta la posibilidad de que varios compuestos de la mezcla compleja de estos efluentes estén actuando de manera sinérgica produciendo efectos tóxicos sobre las algas debido a los altos %I obtenidos en el presente trabajo. Asimismo, un posible componente en estos efluentes como el glutaral-

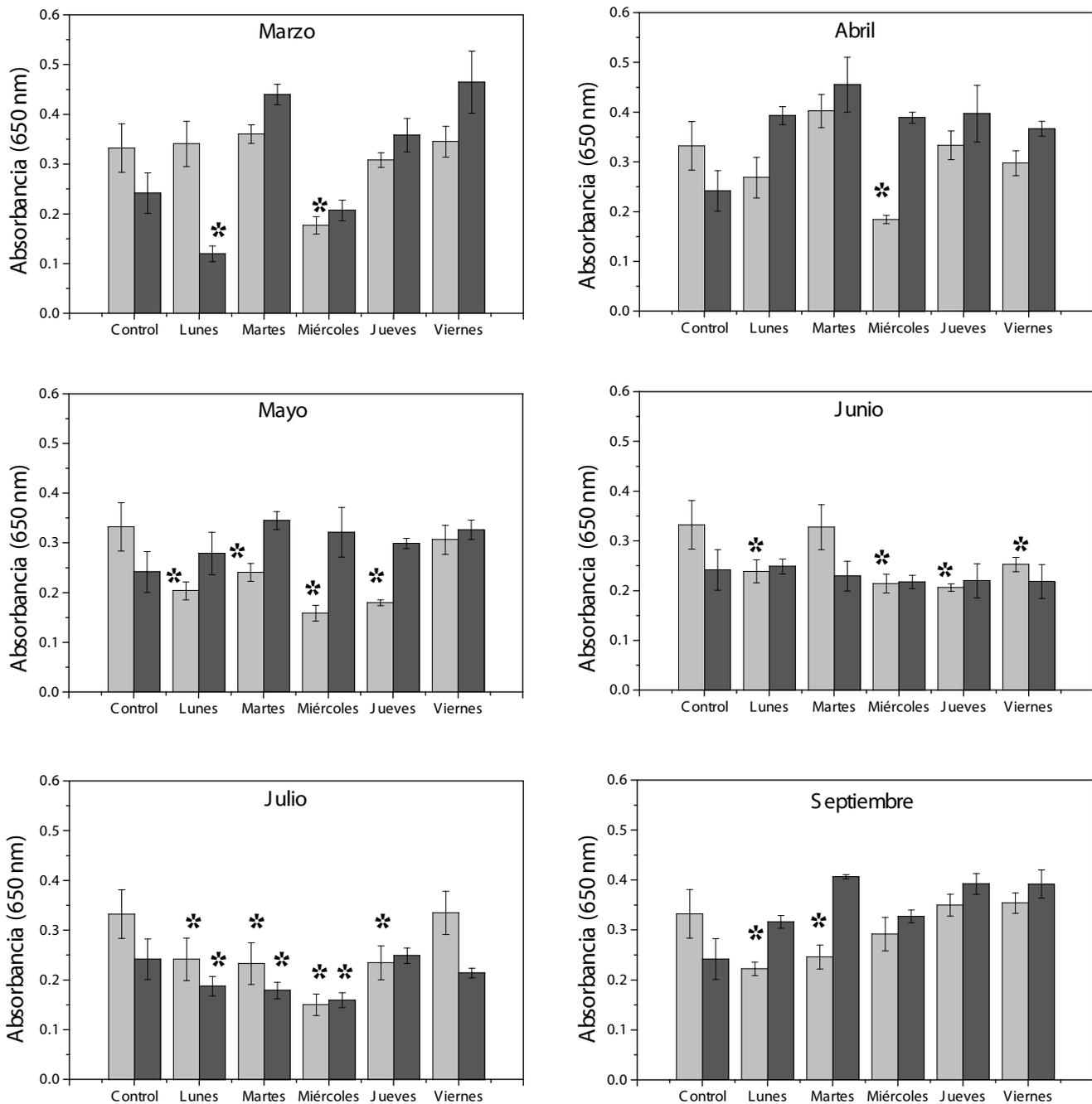


Figura 1. Densidad algal de *P. subcapitata* (■) y *C. vulgaris* (■) a las 96 horas de cultivo estimada como absorbancia (650 nm) en el control y las muestras compuestas de cada mes y día hábil de la semana. \* Diferencias significativas con respecto al control.

dehído de amplio uso en actividades de desinfección, podría resultar tóxico para las algas en concentraciones entre 1,0 y 2,5 mg/l (Sano y col. 2005). Si bien el efecto de dilución de estos efluentes en aguas del Río de la Plata resulta considerable, es sabido que varios fármacos, tales como los analgésicos, antibióticos, hormonas, psicofármacos y citostáticos, entre otros, pueden encontrarse dentro

del rango de concentraciones de ng/l a  $\mu\text{g/l}$  en aguas superficiales (Kümmerer 2001). Por otra parte, muchos de estos compuestos presentan baja biodegradabilidad en el ambiente, como por ejemplo los antibióticos del tipo quinolonas, nitroimidazoles, sulfamidas (Ingerslev y Halling-Sorensen 2000) y los citostáticos (Kümmerer 2001).

La gran diversidad de actividades en el hospi-

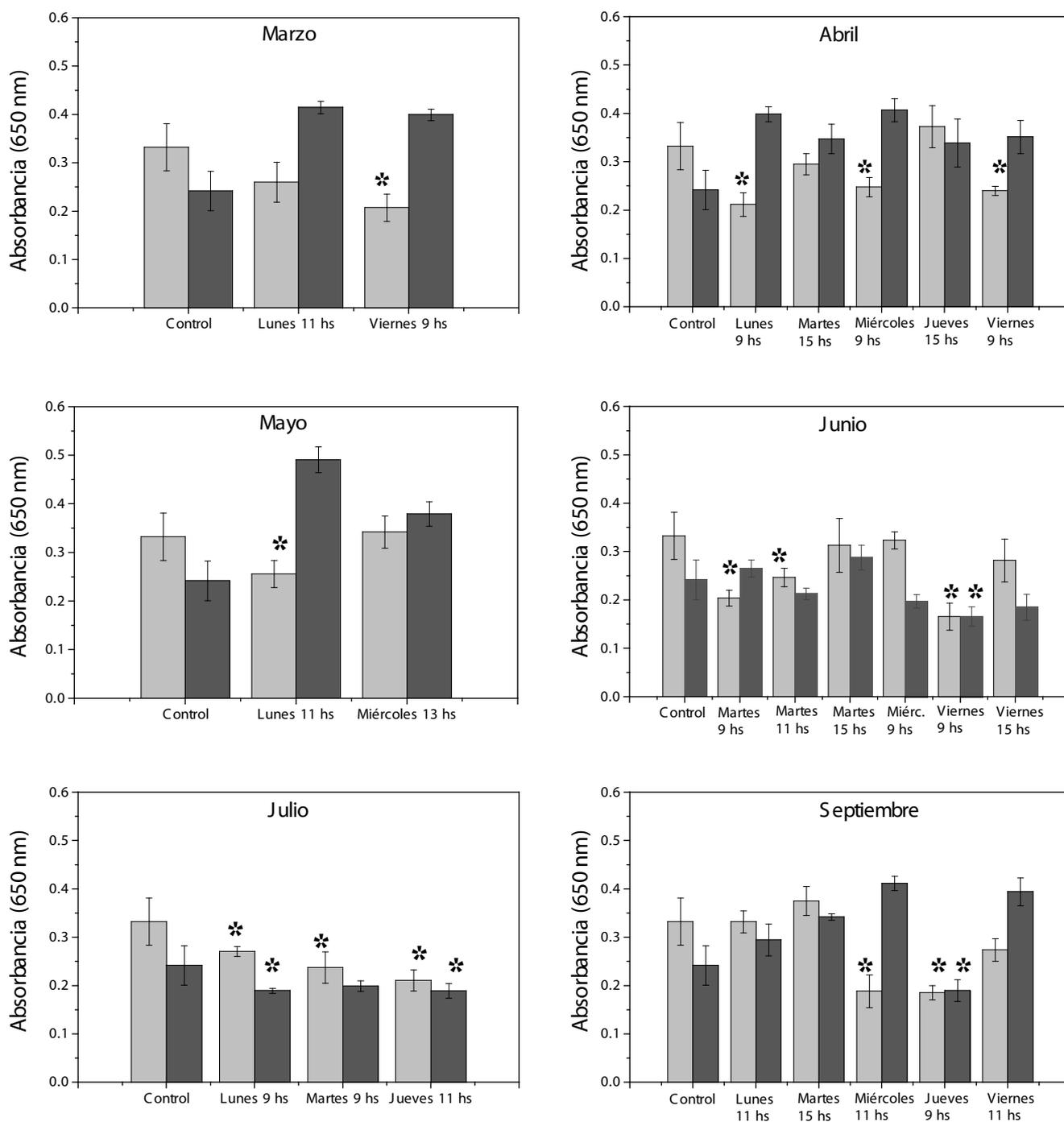


Figura 2. Densidad algal de *P. subcapitata* (■) y *C. vulgaris* (■) a las 96 horas de cultivo estimada como absorbancia (650 nm) en el control y las muestras individuales con concentraciones de cloro residual obtenidas en cada mes y día de muestreo. \* Diferencias significativas con respecto al control.

tal de Clínicas José de San Martín genera un efluente con posibles efectos ecotoxicológicos sobre el ambiente. Estos tipos de efluentes constituyen mezclas complejas de sustancias cuya actividad tóxica y genotóxica dependerá de las interacciones sinérgicas y antagónicas

que puedan ocurrir entre sus distintos componentes. En general, las bajas concentraciones de ciertos agentes tóxicos pueden ser químicamente no detectables por métodos analíticos lo que hace necesaria la utilización de sistemas biológicos para su detección.

**Tabla 2.** Análisis de mutagenicidad de *Salmonella*/microsomos, en ausencia (-S9) y presencia (+S9) de activación metabólica en las muestras filtradas y en los extractos etéreos XAD-2 de cada día.

| Muestras   | Filtradas    |              |               |               | Extractos (DMSO) |              |               |               |
|------------|--------------|--------------|---------------|---------------|------------------|--------------|---------------|---------------|
|            | TA98<br>- S9 | TA98<br>+ S9 | TA100<br>- S9 | TA100<br>+ S9 | TA98<br>- S9     | TA98<br>+ S9 | TA100<br>- S9 | TA100<br>+ S9 |
| CN*        | 25 ± 3       | 39 ± 5       | 145 ± 23      | 175 ± 30      | 28 ± 7           | 32 ± 9       | 172 ± 46      | 164 ± 28      |
| Marzo      |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes      | 22 ± 2       | 38 ± 6       | 183 ± 9       | 230 ± 10      | 18 ± 1           | 22 ± 2       | 286 ± 16      | 118 ± 5       |
| Martes     | 25 ± 2       | 38 ± 2       | 158 ± 6       | 229 ± 19      | 16 ± 1           | 28 ± 3       | 305 ± 15      | 98 ± 20       |
| Miércoles  | 31 ± 3       | 39 ± 6       | 165 ± 10      | 231 ± 23      | 27 ± 1           | 23 ± 3       | 341 ± 13      | 108 ± 13      |
| Jueves     | 22 ± 2       | 34 ± 7       | 179 ± 4       | 228 ± 12      | 25 ± 1           | 24 ± 4       | 301 ± 25      | 165 ± 8       |
| Viernes    | 23 ± 4       | 39 ± 6       | 188 ± 5       | 241 ± 4       | 30 ± 6           | 27 ± 3       | 224 ± 77      | 51 ± 7        |
| Abril      |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes      | 22 ± 3       | 33 ± 1       | 89 ± 12       | 171 ± 10      | 22 ± 2           | 54 ± 2       | 171 ± 11      | 0 ± 0         |
| Martes     | 29 ± 7       | 33 ± 6       | 84 ± 14       | 174 ± 20      | 25 ± 5           | 48 ± 1       | 174 ± 12      | 0 ± 0         |
| Miércoles  | 31 ± 7       | 34 ± 5       | 67 ± 14       | 163 ± 7       | 19 ± 2           | 38 ± 3       | 179 ± 16      | 194 ± 6       |
| Jueves     | 25 ± 6       | 51 ± 6       | 93 ± 19       | 174 ± 4       | 23 ± 2           | 35 ± 5       | 161 ± 4       | 212 ± 14      |
| Viernes    | 21 ± 1       | 39 ± 4       | 108 ± 14      | 156 ± 8       | 28 ± 2           | 42 ± 4       | 179 ± 17      | 229 ± 4       |
| Mayo       |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes      | 21 ± 4       | 38 ± 1       | 157 ± 9       | 177 ± 4       | 22 ± 3           | 32 ± 3       | 128 ± 5       | 129 ± 9       |
| Martes     | 21 ± 2       | 43 ± 3       | 154 ± 10      | 186 ± 6       | 31 ± 2           | 26 ± 2       | 173 ± 11      | 146 ± 11      |
| Miércoles  | 18 ± 2       | 41 ± 6       | 163 ± 9       | 194 ± 4       | 20 ± 6           | 33 ± 2       | 168 ± 13      | 143 ± 10      |
| Jueves     | 25 ± 4       | 35 ± 5       | 133 ± 4       | 187 ± 1       | 27 ± 7           | 25 ± 4       | 167 ± 9       | 154 ± 11      |
| Viernes    | 20 ± 4       | 40 ± 6       | 0 ± 0         | 188 ± 4       | 30 ± 4           | 40 ± 5       | 172 ± 10      | 164 ± 6       |
| Junio      |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes      | 28 ± 2       | 26 ± 0       | 138 ± 9       | 165 ± 7       | 28 ± 1           | 32 ± 3       | 140 ± 6       | 158 ± 3       |
| Martes     | 18 ± 1       | 29 ± 6       | 136 ± 8       | 195 ± 14      | 33 ± 3           | 26 ± 3       | 130 ± 4       | 240 ± 10      |
| Miércoles  | 22 ± 2       | 41 ± 5       | 132 ± 9       | 190 ± 8       | 31 ± 5           | 24 ± 4       | 163 ± 6       | 218 ± 11      |
| Jueves     | 17 ± 3       | 35 ± 6       | 120 ± 11      | 180 ± 9       | 31 ± 1           | 37 ± 4       | 143 ± 16      | 196 ± 4       |
| Viernes    | 24 ± 2       | 33 ± 7       | 131 ± 9       | 181 ± 2       | 23 ± 1           | 29 ± 4       | 161 ± 4       | 203 ± 13      |
| Julio      |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes      | 22 ± 5       | 33 ± 3       | 129 ± 13      | 208 ± 17      | 19 ± 3           | 27 ± 6       | 177 ± 6       | 174 ± 6       |
| Martes     | 22 ± 2       | 35 ± 9       | 123 ± 10      | 163 ± 3       | 31 ± 5           | 17 ± 1       | 139 ± 15      | 194 ± 2       |
| Miércoles  | 21 ± 3       | 41 ± 5       | 188 ± 8       | 187 ± 18      | 24 ± 1           | 22 ± 1       | 122 ± 7       | 198 ± 7       |
| Jueves     | 24 ± 2       | 39 ± 4       | 179 ± 5       | 0 ± 0         | 27 ± 6           | 32 ± 5       | 131 ± 13      | 174 ± 3       |
| Viernes    | 20 ± 2       | 42 ± 4       | 128 ± 6       | 0 ± 0         | 23 ± 2           | 24 ± 1       | 134 ± 14      | 169 ± 4       |
| Septiembre |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes      | 38 ± 3       | 38 ± 1       | 143 ± 11      | 122 ± 4       | 29 ± 5           | 47 ± 1       | 192 ± 7       | 236 ± 11      |
| Martes     | 24 ± 3       | 39 ± 4       | 164 ± 10      | 132 ± 13      | 39 ± 4           | 51 ± 1       | 196 ± 4       | 208 ± 26      |
| Miércoles  | 38 ± 4       | 34 ± 5       | 156 ± 6       | 131 ± 6       | 33 ± 1           | 56 ± 3       | 180 ± 3       | 196 ± 8       |
| Jueves     | 41 ± 2       | 47 ± 1       | 126 ± 8       | 153 ± 6       | 46 ± 4           | 54 ± 2       | 197 ± 28      | 210 ± 28      |
| Viernes    | 24 ± 3       | 54 ± 4       | 156 ± 6       | 153 ± 6       | 35 ± 4           | 47 ± 1       | 177 ± 8       | 247 ± 21      |

\* Control Negativo: agua destilada estéril o DMSO. Controles positivos: TA98 +S9: 2AF (10 µg/placa) 2500 ± 50; TA100 -S9: AS (5 µg/placa) 1200 ± 110; TA100 +S9: 2AF (10 µg/placa) 3100 ± 210.

**Tabla 3.** Análisis de mutagenicidad de *Salmonella*/microsomas, en ausencia (-S9) y presencia (+S9) de activación metabólica en las muestras filtradas y en los extractos etéreos XAD-2 de las submuestras con concentraciones de cloro residual.

| Muestras        | Filtradas    |              |               |               | Extractos (DMSO) |              |               |               |
|-----------------|--------------|--------------|---------------|---------------|------------------|--------------|---------------|---------------|
|                 | TA98<br>- S9 | TA98<br>+ S9 | TA100<br>- S9 | TA100<br>+ S9 | TA98<br>- S9     | TA98<br>+ S9 | TA100<br>- S9 | TA100<br>+ S9 |
| CN*             | 25 ± 3       | 39 ± 5       | 145 ± 23      | 175 ± 30      | 28 ± 7           | 32 ± 9       | 172 ± 46      | 164 ± 28      |
| Marzo           |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes 11 hs     | 20 ± 1       | 41 ± 4       | 175 ± 6       | 202 ± 18      | 12 ± 3           | 30 ± 2       | 359 ± 42      | 120 ± 9       |
| Viernes 9 hs    | 29 ± 3       | 30 ± 4       | 173 ± 7       | 239 ± 9       | 15 ± 1           | 26 ± 2       | 255 ± 24      | 125 ± 11      |
| Abril           |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes 9 hs      | 24 ± 4       | 35 ± 6       | 100 ± 18      | 152 ± 8       | 23 ± 3           | 45 ± 6       | 188 ± 6       | 199 ± 3       |
| Martes 15 hs    | 25 ± 9       | 43 ± 6       | 109 ± 8       | 165 ± 21      | 17 ± 2           | 50 ± 1       | 159 ± 21      | 191 ± 6       |
| Miércoles 9 hs  | 26 ± 8       | 53 ± 6       | 119 ± 10      | 160 ± 10      | 27 ± 7           | 36 ± 4       | 166 ± 14      | 207 ± 4       |
| Jueves 15 hs    | 30 ± 10      | 30 ± 0       | 86 ± 10       | 147 ± 20      | 33 ± 3           | 35 ± 3       | 173 ± 16      | 196 ± 8       |
| Viernes 9 hs    | 33 ± 2       | 39 ± 8       | 109 ± 10      | 183 ± 7       | 28 ± 4           | 38 ± 2       | 173 ± 25      | 184 ± 8       |
| Mayo            |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes 11 hs     | 19 ± 3       | 41 ± 1       | 0 ± 0         | 192 ± 8       | 32 ± 2           | 37 ± 5       | 153 ± 6       | 141 ± 4       |
| Miércoles 13 hs | 24 ± 3       | 38 ± 2       | 0 ± 0         | 182 ± 8       | 33 ± 1           | 24 ± 3       | 172 ± 10      | 129 ± 10      |
| Junio           |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Martes 9 hs     | 29 ± 2       | 34 ± 7       | 151 ± 8       | 183 ± 8       | 33 ± 1           | 26 ± 0       | 116 ± 6       | 189 ± 6       |
| Martes 11 hs    | 23 ± 4       | 28 ± 1       | 180 ± 7       | 172 ± 7       | 35 ± 5           | 24 ± 1       | 124 ± 4       | 166 ± 4       |
| Martes 15 hs    | 26 ± 1       | 44 ± 6       | 161 ± 7       | 167 ± 6       | 27 ± 1           | 31 ± 2       | 168 ± 4       | 232 ± 11      |
| Miércoles 9 hs  | 18 ± 2       | 69 ± 9       | 144 ± 10      | 202 ± 10      | 34 ± 1           | 37 ± 3       | 140 ± 8       | 175 ± 6       |
| Viernes 9 hs    | 17 ± 2       | 32 ± 5       | 170 ± 10      | 158 ± 4       | 25 ± 5           | 38 ± 3       | 181 ± 6       | 248 ± 6       |
| Viernes 15 hs   | 20 ± 3       | 31 ± 2       | 147 ± 9       | 154 ± 6       | 27 ± 1           | 44 ± 4       | 154 ± 8       | 184 ± 11      |
| Julio           |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes 9 hs      | 21 ± 3       | 39 ± 4       | 136 ± 12      | 0 ± 0         | 27 ± 4           | 23 ± 2       | 102 ± 2       | 163 ± 6       |
| Martes 9 hs     | 23 ± 2       | 41 ± 3       | 139 ± 6       | 0 ± 0         | 21 ± 4           | 32 ± 5       | 131 ± 9       | 181 ± 11      |
| Jueves 11 hs    | 23 ± 3       | 0 ± 0        | 182 ± 8       | 14 ± 2        | 24 ± 3           | 27 ± 6       | 176 ± 7       | 210 ± 4       |
| Septiembre      |              |              |               |               |                  |              |               |               |
| Lunes 11 hs     | 14 ± 2       | 31 ± 1       | 127 ± 8       | 147 ± 5       | 34 ± 2           | 58 ± 1       | 210 ± 2       | 231 ± 12      |
| Martes 15 hs    | 18 ± 1       | 43 ± 5       | 138 ± 3       | 119 ± 10      | 28 ± 4           | 64 ± 4       | 191 ± 6       | 255 ± 18      |
| Miércoles 11 hs | 16 ± 4       | 37 ± 4       | 151 ± 6       | 140 ± 2       | 40 ± 3           | 50 ± 4       | 199 ± 10      | 191 ± 17      |
| Jueves 9 hs     | 14 ± 3       | 45 ± 2       | 115 ± 6       | 119 ± 10      | 47 ± 4           | 55 ± 3       | 196 ± 12      | 194 ± 11      |
| Viernes 11 hs   | 30 ± 2       | 42 ± 2       | 120 ± 5       | 109 ± 6       | 43 ± 4           | 51 ± 5       | 180 ± 3       | 186 ± 17      |

\* Control Negativo: agua destilada estéril o DMSO. Controles positivos: TA98 +S9: 2AF (10 µg/placa) 2500 ± 50; TA100 -S9: AS (5 µg/placa) 1200 ± 110; TA100 +S9: 2AF (10 µg/placa) 3100 ± 210.

## CONCLUSIONES

Más del 50 % de las muestras del efluente del Hospital de Clínicas José de San Martín resultaron tóxicas para *P. subcapitata* lo que sugiere

un potencial riesgo ecotoxicológico para las aguas receptoras del Río de la Plata. Sin embargo, estos efluentes no presentaron riesgo genotóxico en sus componentes polares y no

polares. De los tres ensayos utilizados, el ensayo algal con *P. subcapitata* fue el más sensible, y podría utilizarse en futuros estudios de monitoreo y de tratamiento de líquidos residuales hospitalarios.

Agradecimientos: Este trabajo fue realizado con el apoyo de la Universidad de Buenos Aires, Secretaría de Ciencia y Técnica, UBACyT N° B035.

### BIBLIOGRAFÍA CITADA

American Public Health Association, American Water Works Association y Water Pollution Control Federation. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. 17ª Edición. Ed. Díaz de Santos, S.A. Madrid. 1992.

Archibald P.A., Bold H.C. Phycological studies. XI. The Genus *Chlorococcum* Meneghini. Univ. Texas Public., N°7015, Austin, Texas. 1970.

Berto J., Rothenbach G.C., Barreiros M.A.B., Corrêa A.X.R., Peluso-Silva S., Radetski C.M. Physico-chemical, microbiological and ecotoxicological evaluation of a septic tank/Fenton reaction combination for the treatment of hospital wastewaters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2009;72:1076-1081.

Blaise C., Gagné F., Eullaffroy P., Férard J.F. Microplate toxicity tests with microalgae: a review. En: Wells P., Lee K., Blaise C., editors. *Microscale Testing in Aquatic Toxicology. Advances, Techniques and Practice*. CRC Press, Boca Raton, USA, 2006; 269-288.

Emmanuel E., Keck G., Blanchard J.M., Vermande P., Perrodin Y. Toxicological effects of disinfections using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. *Environmental International*. 2004;30:891-900.

Emmanuel E., Perrodin Y., Keck G., Blanchard J.M., Vermande P. Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater: a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network. *Journal of Hazardous Materials*. 2005;117:1-11.

Environmental Canada. Biological test method: Growth inhibition test using a freshwater algae. EPS 1/RM/25 Second Edition. 2007; 53 p.

Ferk F., Mišić M., Grummt G., Majer B., Fuerhacker M., Buchmann C., Vital M., Uhd M.,

Lenz K., Grillitsch B., Parzefall W., Nersesyan A., Knasmüller S. Genotoxic effects of wastewater from an oncological ward. *Mutation Research*. 2009;672:69-75.

Ferrari B., Mons R., Volla B., Fraysse B., Paxeus N., Lo Giudice R., Pollio A., Garric J. Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2004;23:1344-1354.

Gupta P., Mathur N., Bhatnagar P., Nagar P., Srivastava S. Genotoxicity evaluation of hospital wastewaters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2009;72:1925-1932.

Heberer T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*. 2002;131:5-17.

Ingerslev F., Halling-Sorensen B. Biodegradability properties of sulfonamides in activated sludge. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2000;19:2467-2473.

Instituto Nacional del Agua (INA), Laboratorio de Hidráulica (LHA). Evaluación de la calidad del agua en la franja costera sur del Río de la Plata mediante modelación numérica. Ezeiza, Buenos Aires. Subsecretaría de Recursos Hídricos, Secretaría de Obras Públicas, República Argentina 2011 Ene. 181p.

Jolibois B., Guerbet M. Evaluation of industrial, hospital and domestic wastewater genotoxicity with the *Salmonella* fluctuation test and the SOS chromotest. *Mutation Research*. 2005;565:151-162.

Jolibois B., Guerbet M., Vassal S. Detection of hospital wastewater genotoxicity with the SOS chromotest and Ames fluctuation test. Short Communication. *Chemosphere*. 2003;51:539-543.

Kümmerer K. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewaters by hospitals in relation to other sources – a review. *Chemosphere*. 2001;45:957-969.

Kümmerer K., Al-Ahmad A. Biodegradability of

the anti-tumor agents 5-fluorouracil, cytarabine and gemcitabine: impact of the chemical structure and synergistic toxicity with hospital effluents. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*. 1997;25:166-172.

Kümmerer K., Al-Ahmad A., Bertram B., Wiebler M. Biodegradability of antineoplastic compounds in screening tests: influence of glucosidation and of stereochemistry. *Chemosphere*. 2000;40:767-773.

Liu B.Y., Nie X.P., Liu W.Q., Snoeijs P., Guan C., Tsui M.T. Toxic effects of erythromycin, ciprofloxacin and sulfamethoxazole on photosynthetic apparatus in *Selenastrum capricornutum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2011;74(4):1027-1035.

Maron D., Ames B.N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*. 1983;113:173-215.

Miller W.E., Greene J.C., Shiroyama T. The *Selenastrum capricornutum* Printz algal assay bottle test: Experimental design, application, and data interpretation protocol. EPA-600/9-78-018. U.S. Environmental Protection Agency, Corvallis, Oregon. 1978;126 p.

Monarca S., Feretti D., Collivignarelli C., Guzzella L., Zerbini I., Bertanza G., Pedrazzani R. Influence of different disinfectants on mutagenicity and toxicity of urban wastewater. *Water Research*. 2000;34;17:4261-4269.

Mortelmans K., Zeiger E. The Ames *Salmonella* / microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*. 2000;455:29-60.

Ohe T., Watanabe T., Wakabayashi K. Mutagens in surface waters. *Mutation Research*. 2004;567: 109-149.

Paz M., Muzio H., Gemini V., Magdaleno A., Rossi S., Korol S., Moretton J. Aguas residuales de un Centro Hospitalario de Buenos Aires, Argentina: Características químicas, biológicas y toxicológicas. *Higiene y Sanidad Ambiental*. 2004;4:83-88.

Pro J., Ortiz J.A., Boleas S., Fernández C., Carbonell G., Tarazona J.V. Effect assessment of antimicrobial pharmaceuticals on the aquatic plant *Lemna minor*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2003;70:290-295.

Sano L.L., Krueger A.M., Landrumb P.F. Chronic toxicity of glutaraldehyde: differential sensitivity of three freshwater organisms. *Aquatic Toxicology*. 2005;71:283-296.

Santos L.H.M.L.M., Araújo A.N., Fachini A., Pena A., Delerue-Matos C., Montenegro M.C.B.S.M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment - a review. *Journal of Hazardous Materials*. 2010;175:45-95.

Siddiqui A.H., Ahmad M. The *Salmonella* mutagenicity of industrial, surface and ground water samples of Aligarh region of India. *Mutation Research*. 2003;541:21-29.

Sokal R.R., Rohlf F.J. *Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Ed. H. Blume, Madrid. 1979; 832.

Turkdogan F.I., Yetilmezsoy K. Appraisal of potential environmental risks associated with antibiotic consumption in Turkey. *Journal of Hazardous Materials*. 2009;166:297-308.

Zoukova R., Kovalova L., Blaha L., Dott W. Ecotoxicity and genotoxicity assessment of cytotoxic antineoplastic drugs and their metabolites. *Chemosphere*. 2010;81:253-260.

**Aspectos clínicos, epidemiológicos y de tratamiento de 11 casos de envenenamiento por  
ciempiés en Adícora, Península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela**  
**Clinical, epidemiological and treatment aspects of eleven cases of centipede envenomation  
in Adícora, Paraguaná peninsula, Falcón state, Venezuela**

Cazorla Perfetti, Dalmiro J.<sup>1\*</sup>; Loyo Sivira, Jesús E.<sup>2</sup>; Lugo Hernández,  
Lusneida N.<sup>2</sup>; Acosta Quintero, María E.<sup>1</sup>; Morales Moreno Pedro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Entomología, Parasitología y Medicina Tropical (L.E.P.A.M.E.T.), Centro de Investigaciones Biomédicas (C.I.B.), Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda" (UNEFM), Coro, Estado Falcón, Venezuela. <sup>2</sup>Secretaría de Salud, Estado Falcón, Venezuela.

\*lutzomyia@hotmail.com

Recibido: 26 de abril de 2012  
Aceptado: 22 de julio de 2012

**Resumen.** A pesar de que las picaduras por ciempiés o centípedos (Phylum Arthropoda, Clase Chilopoda) son frecuentes y pueden potencialmente ocasionar el deceso del individuo, en Venezuela son pocos los estudios acerca de su ocurrencia. Entre octubre de 2006 y mayo de 2007, se realizó un estudio descriptivo y prospectivo para determinar los perfiles clínicos, epidemiológicos y tratamiento de los envenenamientos ocasionados por centípedos en individuos que asistieron a la emergencia ambulatoria en Adícora, estado Falcón, Venezuela. Se hizo la evaluación clínica y la anamnesis para indagar la hora y el lugar del accidente. El centípedo se recolectó para identificación. El tratamiento consistió en aplicación tópica de solución antiséptica yodada (Povidona®); analgésico antiinflamatorio endovenoso y toxoide tetánico; en el caso de abscesos se administró antibiótico terapia *per os*. Se registraron 11 pacientes mordidos por *Scolopendra* sp., 6 (54,55%) femeninos y 5 (45,46%) varones. Los accidentes ocurrieron con mayor frecuencia en meses de la estación seca (diciembre-abril; >60%), en adultos (39–62 años; 81,82%), residentes locales (81,82%) dentro del domicilio (54,55%) en horas nocturnas (63,64%) y en los miembros inferiores (54,55%). Los pacientes asistieron a la emergencia ambulatoria entre 5 a 600 minutos después del accidente ( $\bar{X}=169,9 \pm 236,3$ ). Las manifestaciones clínicas mayormente observadas fueron de tipo local: dolor intenso [Escala Analógica Visual (VAS) =  $\bar{X}$ : 8,5  $\pm$  0,63], y eritema en 100% de los casos. Se obtuvo una evolución postratamiento satisfactoria entre 4 y 5 días y VAS de dolor promedio significativamente menor ( $\bar{X}= 0,09 \pm 0,20$ ; t= 42,0, P= 0,0001).

Los accidentes por *Scolopendra* sp. en Adícora, estado Falcón, Venezuela son un problema de salud pública, que parecieran incrementarse por los hábitos sinantrópicos y nocturnos de los centípedos, y seguir un patrón estacional. Se presentaron manifestaciones locales que requirieron un tratamiento básicamente local.

**Palabras claves:** Ciempiés; *Scolopendra* sp.; Envenenamiento; Venezuela.

**Abstract.** Despite centipede (Phylum Arthropoda, Clase Chilopoda) bites in humans are frequent and may potentially result in fatal consequences, in Venezuela publications on its envenoming and related characteristics are really scarce. Between October 2006 and May 2007, a descriptive and prospective survey was conducted to investigate epidemiological, clinical and treatment profiles on injuries caused by centipedes in patients that were attended in ambulatory emergency service at Adicora, Falcón state, Venezuela. These were clinically examined, and by mean of anamnesis were recorded site and time of bite. The centipede was collected for identification. Treatment consisted on the application of a topical antiseptic solution (povidone-iodine), intravenous administration of an anti-inflammatory analgesic, antibiotic therapy *per os* and tetanus immunization. It was registered 11 cases bitten by *Scolopendra* sp., 6 (54.55%) females and 5 (45.46%) males. Most of accidents occurred in the dry season (December-April>60%), adults (39–62 years old; 81.82%) local residents (81.82%), inside the home (54.55%), during the night (63.64%) and on the lower limbs (54.55%). The time between ambulatory medical assistance and the accident varied from 5 to 600 minutes, with a mean time of 169.9  $\pm$  236.3. Most clinical manifestations observed were local: intense pain [Visual Analog Scale (VAS) =  $\bar{X}$ : 8.5  $\pm$  0.63], and erythema 100% of the cases. Patients had a satisfactory post-treatment evolution after 4 and 5 days, and pain VAS mean values significantly lower ( $\bar{X}= 0.09 \pm 0.20$ ; t= 42.0, P= 0.0001). Envenoming injuries caused by *Scolopendra* sp. are

a public health concern at Adicora, Falcon state, Venezuela, that appear to increase with sinanthropic and nocturnal habits of centipede, and follow a seasonal pattern, requiring local symptomatic therapeutical treatment.

**Keywords:** Centipedes; *Scolopendra* sp.; Envenomation; Venezuela.

## INTRODUCCIÓN

Los centípedos conocidos comúnmente como ciempiés, se encuentran entre los grupos de animales invertebrados del Phylum de los artrópodos (Sub Phylum Myriapoda) que menos se han investigado y estudiado. Pertenecen a clase Chilopoda, la cual la integran alrededor de 3500 especies agrupadas en 5 órdenes, y que se consideran depredadores terrestres muy activos, que se distribuyen con excepción de la Antártida en todos los continentes del globo terráqueo (Edgecombe y Giribet 2007; Undheim y King 2011; Dugon y Wallace 2012).

Dentro de los rasgos morfológicos más llamativos del grupo para el ojo humano, destaca, entre otros, la posesión de un par de patas en cada segmento del tronco (15-191). Sin embargo, el primer par de segmentos modificados denominados forcípulas o telopoditos, es el rasgo anatómico que los hace más preocupantes para los seres humanos, ya que a través de éstos pueden inyectar veneno. El veneno generalmente se usa para someter a sus presas, aunque al verse sorprendidos, pueden utilizarlo de forma defensiva y de esa manera ocasionar los accidentes (Undheim y King 2011; Dugon y Wallace 2012). El veneno se encuentra compuesto, entre otras sustancias, por histamina, lípidos, polisacáridos y varias enzimas (proteinasas, esterases) (Undheim y King 2011). Aunque la mayoría de los centípedos son de tallas pequeñas y sus picaduras generalmente no ocasionan efectos clínicos de consideración, no obstante, existen reportes, inclusive de casos fatales, debido a su envenenamiento (Serinken y col. 2005; Yildiz y col. 2006).

Si se hace un análisis desde un punto de vista de la artropodología sanitaria, los accidentes por centípedos que se reportan con mayor frecuencia y de mayor severidad son los debidos a los taxones pertenecientes al orden Scolopendromorpha, integrado por más de 600 especies que poseen una constitución robusta incluyendo sus apéndices forcipulares, desarrollan altas velocidades, se esconden y camuflan en sitios oscuros y de elevada humedad como apilamientos de rocas, escombros,

hojarasca y rendijas, y en subsuelos. Ocasionalmente, entran dentro del domicilio humano, con una amplia distribución, especialmente hacia las zonas calientes y templadas tropicales. Particularmente, las especies del género *Scolopendra* (Scolopendridae) poseen uno de los venenos más tóxicos además de ser de los más estudiados (Isbister 2004; Serinken y col. 2005; Yildiz y col. 2006; Edgecombe y Giribet 2007; Undheim y King 2011).

Como se ha dicho anteriormente (Acosta y Cazorla 2004), en Venezuela e incluso en América Latina, son pocos los estudios, (de tipo clínico, eco-epidemiológico, de tratamiento, toxicológico, toxicológico) relacionados con los accidentes ocasionados por los centípedos, así como también son escasos los estudios acerca de la biología y taxonomía de este grupo de artrópodos-miriápodos. Esto habla a favor de que no se considere una problemática de Salud Pública de alto interés (Acosta y Cazorla 2004).

El estado Falcón, al nor-occidente de Venezuela, y particularmente su región semiárida, no escapa a esta realidad planteada. Por ello, en el presente trabajo un equipo de investigación multidisciplinario del Laboratorio de Entomología, Parasitología y Medicina Tropical (LEPAMET) y la Secretaría de Salud regional se propuso aportar datos acerca de las características clínicas, epidemiológicas y de tratamiento del escolopendrismo en los balnearios de la Bahía de Adicora, en la Península de Paraguaná de la región falconiana, cuyos sitios turísticos son ampliamente visitados durante los días festivos y asueto, lo cual incrementaría las posibilidades de ocurrencia de accidentes por la fauna venenosa en general, tal como se ha observado con la fauna marina en particular, por ejemplo: peces escorpión (Loyo y col. 2008), rayas (Cazorla y col. 2009) y erizos (Cazorla y col. 2010).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio de tipo prospectivo y descriptivo, se realizó en los individuos que aduciendo haber sido heridos por ciempiés, consultaron entre octubre de 2006 y mayo de 2007, la emergen-

cia del ambulatorio rural tipo II de la población de Adícora (Lat.: 11°93'N; Long.: 69°8'O), puerto pesquero y balneario turístico ubicado

en la bahía de Adícora, de la península de Paraguaná, región semiárida del nor-occidente de Venezuela (Figura 1). El área posee una



Figura 1. Ubicación geográfica de Adícora, Península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela.

zona de vida bioclimática correspondiente al Monte Espinoso Tropical (MET), cuyas características ya han sido reseñadas en un artículo anterior (Loyo y col. 2008).

De acuerdo con los principios básicos de bioética de la declaración de Helsinki, se obtuvo el consentimiento de los adultos y la autorización de los padres o representantes en el caso de los menores de edad. Mediante anamnesis se indagaron datos de interés epidemiológico: procedencia, lugar y hora del envenenamiento y actividad que realizaba. Se hizo una evaluación clínica, especialmente orientada hacia la búsqueda de signos y síntomas atribuidos a los accidentes ocasionados por centípedos, incluyendo, entre otros, dolor intenso, eritema, signos de flogosis, etc.

La intensidad del dolor del accidente se eva-

luó a través de la escala visual analógica (VAS) cromática del dolor, que determina la intensidad del dolor en forma subjetiva según colores desde el blanco hasta el rojo oscuro, con equivalencia numérica de 0 a 10, siendo cero (0) sin dolor, 2 leve, 4 moderado, 6 severo, 8 muy severo y 10 dolor intolerable.

Para la identificación del animal, éste se recolectaba o se interrogaba al paciente y/o sus acompañantes sobre las características morfológicas del mismo, y se les mostraban fotos de artrópodos venenosos, incluyendo Quilópodos (ciempiés), de manera tal de poder identificarlo específicamente (Chao 2002). La identificación taxonómica de ejemplares de "ciempiés" recolectados por los pacientes y/o pobladores de Adícora, fue hecha en el Laboratorio de Entomología, Parasitología y Medi-

cina Tropical (LEPAMET), Centro de Investigaciones Biomédicas (CIB), Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda" (UNEFM), Coro, Estado Falcón, Venezuela.

El tratamiento terapéutico consistió en realizar asepsia y antisepsia tópica de las heridas con solución antiséptica yodada (Povidona®); se administró por vía endovenosa hidrocortisona (una ampolla de 500 mg dosis única) + 500 ml de solución Ringer lactato; analgésico antiinflamatorio no esteroideo (Ketoprofeno®) *per os*: 100 mg/8 horas/3 días, y los niños jarabe Diclofenac® 1cc/Kg. En un caso que presentó absceso, se administró antibiótico-terapia (Oxacilina®) 1 gr por vía intravenosa/8 horas/3 días, y luego a razón *per os* de 500 mg/6 horas por 5 días. Adicionalmente, se aplicó intramuscularmente toxoide antitetánico a todos los individuos.

La evolución clínica de los pacientes, especialmente los residentes en la localidad, se monitoreó durante 7 días, y a los no residentes entre 6-24 horas después de haberse instaurado el tratamiento; aplicándose, así mismo, VAS de dolor postratamiento.

#### Análisis estadístico

La comparación entre el VAS de dolor antes y después del tratamiento se hizo por la de *t* de Student. Los datos fueron analizados mediante paquete estadístico MINITAB versión 13.20 (MiniTab Inc. 2000).

#### RESULTADOS

Durante 8 meses de observación, se atendieron 11 individuos con envenenamiento por centípedos escolopendrimorfos ("ciempiés") pertenecientes al género *Scolopendra* sp. (Chao 2002) (Figura 2). Más del 60% de los accidentes ocurrieron en meses correspondientes a la estación de verano: diciembre y abril (Tabla 1). La mayoría (9/11; 81,82%) de los pacientes eran residentes locales, y los restantes (2/11; 18,18%) de los individuos procedían de otras regiones del estado Falcón (1/11; 9,09%) o Venezuela (1/11; 9,09%). Más del 50% de los accidentes ocurrieron dentro del domicilio, generalmente durante la pernocta (hamacas) (Tabla 2); 7 (63,64%) de los accidentes ocurrieron durante la noche, 3 (27,27%) en la mañana, y 1 (9,09%) durante horas vespertinas. El sexo femenino (54,55%) fue ligeramente más afectado que el masculino (45,46%), presentándose más del 80% de los envenenamientos en adultos ( $\bar{X}$ : 48,33  $\pm$  7,12) (Tabla 3). Los pacientes asistieron a la

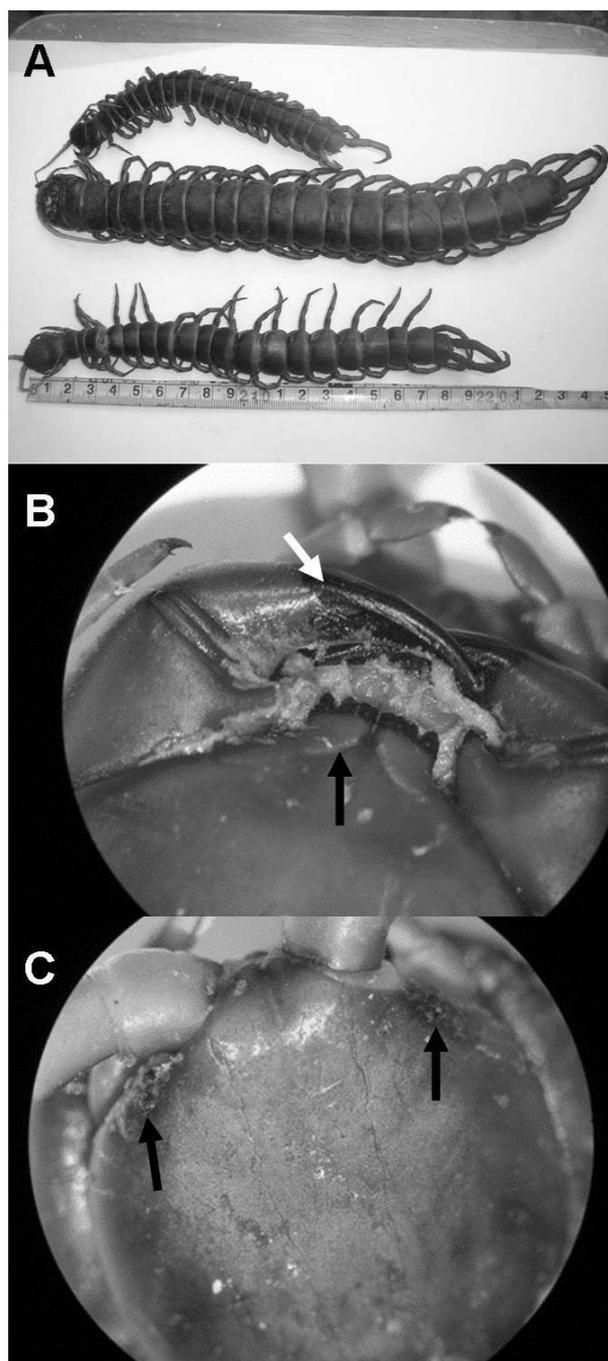


Figura 2. Ejemplares de *Scolopendra* sp. A. Aspecto macroscópico; B. Vista ventral de cabeza. Las flechas blancas señalan las forcípulas, y las negras las placas dentales del coxoesternón (4 X); C. Vista dorsal de cabeza. Las flechas señalan los ocelos (4 X).

emergencia ambulatoria en un tiempo promedio de 169,9 minutos, y un mínimo de 5 y un máximo de 600 minutos (10 horas) después del accidente. La picadura por *Scolopendra*

sp. se presentó en forma de 2 vesículas de 1 mm aproximado de diámetro y separadas por alrededor de 9-10 mm; es importante señalar que tan sólo 1 (9,09%) de las heridas presentó sangrado; cuando se hace el análisis por región anatómica, se tiene que más de la mitad (54,55%) de las injurias se presentaron en los miembros inferiores, específicamente en los dedos de los pies (Tabla 4).

Las manifestaciones clínicas mayormente observadas fueron de tipo local: dolor intenso

(VAS= $\bar{X}$ : 8,5  $\pm$  0,63) y eritema en 100% de los casos (Tabla 5). Uno (9,09%) de los individuos exhibió un absceso en el dedo del pie, 48 horas después de haber sido picado.

Todos los pacientes respondieron satisfactoriamente entre 4 -5 días después de haberse instaurado el tratamiento terapéutico, obteniéndose VAS de dolor ( $\bar{X}$ = 0,09 $\pm$  0,20; t= 42,0, P= 0,0001) significativamente bajo. El paciente que presentó absceso, se curó a los 5 días postratamiento.

**Tabla 1.** Mes y año de ocurrencia de envenenamientos por *Scolopendra* sp. en Adícora, estado Falcón, Venezuela

|      | Octubre  | Noviembre | Diciembre | Febrero  | Abril     | Mayo     |
|------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|----------|
| Año  | N° (%)   | N° (%)    | N° (%)    | N° (%)   | N° (%)    | N° (%)   |
| 2006 | 1 (9,09) | 1 (9,09)  | 3 (27,27) | -        | -         | -        |
| 2007 | -        | -         | -         | 1 (9,09) | 4 (36,36) | 1 (9,09) |

**Tabla 2.** Número y porcentaje de envenenamientos ocasionados por *Scolopendra* sp., según sitio de ocurrencia y actividad de los individuos injuriados.

| Sitio del accidente | Actividad  |           |            |           |
|---------------------|------------|-----------|------------|-----------|
|                     | Pernocta   | Doméstica | Recreativa | Total     |
|                     | N° (%)     | N° (%)    | N° (%)     | N° (%)    |
| Domicilio           | 5 (83,33)* | 1 (16,67) | -          | 6 (54,55) |
| Peridomicilio       | -          | 4 (80,0)  | 1 (20,0)   | 5 (45,46) |

\* 4 en hamacas

**Tabla 3.** Número y porcentaje de envenenamientos ocasionados por *Scolopendra* sp., según sexo y grupo etario.

| Grupo etario (años) | Femenino  | Masculino | Total     |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|
|                     | N° (%)    | N° (%)    | N° (%)    |
| 6-12                | 1 (9,09)  | 1 (9,09)  | 2 (18,18) |
| 20-64               | 5 (45,46) | 4 (36,36) | 9 (81,82) |
| Total               | 6 (54,55) | 5 (45,46) | 11 (100)  |

**Tabla 4.** Región anatómica afectada por picadura de *Scolopendra* sp.

| Región anatómica | Nº (%)    |
|------------------|-----------|
| cabeza           | 2 (18,18) |
| mano             | 1 (9,09)  |
| pies             | 6 (54,55) |

**Tabla 5.** Manifestaciones clínicas ocasionadas por *Scolopendra* sp.

| Síntoma              | Nº pies   |
|----------------------|-----------|
| Dolor                | 11 (100)  |
| Eritema              | 11 (100)  |
| Tumefacción          | 6 (54,55) |
| Edema local          | 5 (45,46) |
| Signos de flogosis   | 1 (9,09)  |
| Parestesia           | 1(9,09)   |
| Adormecimiento local | 1(9,09)   |

## DISCUSIÓN

No es fácil estimar la real frecuencia de ocurrencia de los accidentes ocasionados por la mordedura de centípedos, especialmente en los casos de menor complicación clínica que ocurren en poblaciones o asentamientos humanos pequeños y aislados, ya que los individuos no se presentan en la emergencia ambulatoria y se automedican o acuden a curanderos (Knysak y col. 1998). Además, se debe tener en cuenta que este tipo de eventos clínicos no son de registro obligatorio, y muchas veces se considera erróneamente, inclusive por el personal de salud, que no requieren atención médica. Los hábitos nocturnos de los centípedos y su rapidez de acción dificulta que los individuos mordidos notifiquen los episodios. Por otro lado, los síntomas y signos que exhiben estos pacientes no son patognómicos de los envenenamientos por centípedos en general. Por ejemplo, en los accidentes ofídicos o por otros artrópodos como insectos del orden Hymenoptera (abejas, avispas) o varias especies de escorpiones o arañas, la picadura ocasiona similarmente un dolor intenso (Machado-Allison y Rodríguez-Acosta 1997; Rodríguez-Acosta y col. 2000a, 2000b; Boteiro y Restrepo 2003; Lovcheva y col. 2008). Es por ello, tal como ocurre con otros accidentes de la fauna venenosa en general, que existe un subregistro de casos de escolopendrismo (Machado-Allison y Rodríguez-Acosta 1997; Rodríguez-Acosta y col. 2000a, 2000b). Lo discutido pareciera encontrar apoyo en las cifras dadas por Rodríguez-Acosta y col. (2000a), quienes indican que en la Oficina Central de Información del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social tan sólo reportaron 12 casos de accidentes por ciempiés en un periodo de 30 años (1966-1996) para todo el territorio vene-

zolano. Teniendo en mente estas dificultades, los 11 casos de escolopendrismo detectados durante 8 meses en Adícora, estado Falcón, Venezuela, puede considerarse como una prevalencia relativamente elevada, especialmente cuando se hacen comparaciones con los pocos estudios similares hechos en Venezuela. En este sentido, se tiene que en la población de Capaya, Estado Miranda en la región nor-central, Rodríguez-Acosta y col. (2000b) registraron 5 casos de accidentes por *S. gigantea* en 3 meses de observaciones, mientras que Acosta y Cazorla (2004) atendieron 17 casos por *Scolopendra* sp. en 12 meses de estudio en Río Seco, ubicada similarmente en la región semiárida falconiana. En ambos estudios se consideró la situación detectada como de "epidemia de escolopendrismo" (Rodríguez-Acosta y col. 2000b; Acosta y Cazorla 2004). Por lo tanto, el escolopendrismo en la región falconiana puede considerarse como un relevante problema de Salud Pública.

La pérdida constante y progresiva de sus hábitats naturales por la acción de las invasiones humanas, ha llevado a que los centípedos cada vez tengan más contactos cercanos con los ambientes sinantrópicos, con el subsiguiente incremento del número de casos de escolopendrismo; además, debe tomarse en cuenta lo relacionado con el cambio climático (Rodríguez-Acosta y col. 2000a, 2000b; Lovcheva y col. 2008). Al ser estos animales de hábitos nocturnos y carnívoros, buscan esconderse dentro de rendijas, escombros dentro del domicilio humano y sus alrededores (peridomicilio), donde encuentran las condiciones de temperatura (24-29°C) y humedad (75-80%) adecuadas para su desarrollo, además de sus fuentes alimentarias, como insec-

tos y otros artrópodos, especialmente durante las épocas de verano, tal como se ha detectado en el presente trabajo en Adícora, y en otras regiones de Falcón y Venezuela (Rodríguez-Acosta y col. 2000a, 2000b; Acosta y Cazorla 2004) y el mundo (Knysak y col. 1998; Barroso y col. 2001; Fung y col. 2011). Por otra parte, en un intento por dar otras luces para el entendimiento de la dinámica de ocurrencia de los accidentes escolopéndricos, al observarse la disposición espacial de la vegetación alrededor (peridomicilio) de las viviendas de Adícora, resalta el hecho de la presencia sobre el techo de varias de ellas de extensas ramificaciones pertenecientes a árboles mimosáceos (leguminosas) de la especie *Prosopis juliflora* ("cujíes"), los cuales son muy abundantes en la zona semiárida del monte espinoso tropical (MET) de Venezuela y de la región falconiana (Ewel y col. 1976). Esta disposición sirve de explicación para comprender, en parte, la ocurrencia de los accidentes escolopéndricos durante las horas de pernocta (Acosta y Cazorla, 2004). En efecto, al tener preferentemente actividad nocturna, los ciempiés deambulan con suma facilidad por los techos de las viviendas con la ayuda de las ramas de los "cujíes", pudiendo de este modo trepar por las hamacas, que utilizan muy frecuentemente los habitantes de Adícora. De este modo, los accidentes por las escolopendras pueden presentarse con frecuencia durante las horas de reposo y sueño, tal como se evidenció en 45,46% de los casos. Similar situación se ha observado en otra población rural del semiárido falconiano (Acosta y Cazorla 2004).

El 54,55% de los accidentes de escolopendrismo se presentó en mujeres adultas, lo que se relacionó con las actividades domésticas, especialmente cuando realizaban labores de limpieza sin la protección adecuada (por ejemplo: botas), posiblemente al perturbar a las escolopendras que son muy veloces y escurridizas (Knysak y col. 1998; Barroso y col. 2001). Las mordidas por *Scolopendra* en Adícora se presentaron predominantemente en las zonas más expuestas, particularmente en los miembros inferiores, como similarmente se ha observado en otros estudios (Knysak y col. 1998; Barroso y col. 2001); sin embargo, los ciempiés también ocasionan envenenamientos en otras regiones anatómicas, dependiendo de las actividades que se encuentre realizando el individuo (Lin y col. 1995; Acosta y Cazorla 2004; Fung y col. 2011).

Se ha documentado la acción hemorrágica en el veneno de *Scolopendra* (Undheim y King 2011); en Venezuela, Rodríguez-Acosta y col. (2000b) al detectar eventos hemorrágicos prolongados en tres pacientes mordidos por *S. gigantea*, sugieren esta actividad en dicha especie, mientras que Acosta y Cazorla (2004) no observaron este efecto en 17 pacientes envenenados por centípedos del género *Scolopendra* de la región semiárida del estado Falcón, Venezuela. La detección de al menos un individuo con eventos hemorrágicos en el presente estudio, sugiere que las poblaciones de *Scolopendra* de la península de Paraguaná presentan actividad hemorrágica. Este hallazgo plantea la necesidad de realizar estudios taxonómicos, toxicológicos y toxinológicos específicos de las poblaciones de Chilopoda de la región falconiana.

Tal como se ha reportado en otras áreas del estado Falcón (Acosta y Cazorla, 2004), Venezuela (Rodríguez-Acosta y col. 2000a, 2000b) y en el mundo (Barroso y col. 2001), las manifestaciones clínicas predominantes en Adícora fueron de tipo local (dolor, eritema, edema), requiriéndose de un tratamiento básicamente sintomático a nivel ambulatorio, al cual respondieron todos los individuos satisfactoriamente. La presencia de histamina y serotonina en el veneno de los Scolopendridae, ayuda a explicar la aparición de estos síntomas clínicos locales, ya que ambas sustancias que utilizan las escolopendras pueden causar dolor instantáneo y aumentar la permeabilidad vascular, además de que poseen propiedades edematogénicas y se encuentran involucradas en la respuesta inflamatoria (Undheim y King 2011). Sin embargo, a pesar de ser generalmente benigno, el escolopendrismo también puede potencialmente ocasionar efectos clínicos sistémicos severos que requieren para no llegar inclusive a ser fatal, la atención y observación constante del médico aun a nivel hospitalario (Rodríguez-Acosta y col. 2000a, 2000b; Barroso y col. 2001; Undheim y King 2011). En este mismo sentido, al ser el veneno de los centípedos muy similar al de los insectos del orden Hymenoptera (por ejemplo: abejas), se puede potencialmente esperar, con especial énfasis en niños e individuos con problemas alérgicos a los componentes de estos venenos, que se presenten reacciones anafilácticas severas como urticaria, angiodema en todo el cuerpo y hipotonía arterial (Lovcheva y col. 2008).

Un hecho resaltante en la composición del veneno de los centípedos, es que en algunas especies se ha detectado la presencia de componentes con acción bactericida y antifúngica, como en el caso de *Scolopendra subspinipes mutilans* (Wenhua y col. 2006). Es por ello que varios autores consideran que, generalmente, durante las mordidas de los centípedos, especialmente en *Scolopendra*, con la excepción de la bacteria del tétano (*Clostridium tetani*), existe poco riesgo de infección bacteriana secundaria, por lo que la aplicación de antibiótico-terapia usualmente no se recomienda (Bush y col. 2001; Lovcheva y col. 2008). Sin embargo, tal como se ha observado en pacientes de edad avanzada, con terapia inmunosupresora, abuso de alcohol, HIV+, cáncer, diabéticos, enfermedades renales crónicas o insuficiencia vascular, e inclusive en individuos inmuno-competentes, siempre existe la posibilidad de que ocurra la inoculación de bacterias dentro del espacio subcutáneo, lo que potencialmente puede ocasionar necrosis, celulitis o abscesos (Barroso y col. 2001; Acosta y Cazorla 2004; Serinken y col. 2005; Uzel y col. 2009), tal como se observó en un paciente del presente estudio en Adícora. Por lo tanto, se debe tener presente que existe la posibilidad de que la mordedura de un ciempiés conlleve eventualmente a estos eventos clínicos; por otra parte, como bien lo señalan Fung y col. (2011), es necesario abundar en los estudios acerca de los agentes bacterianos involucrados en estos casos de necrosis, celulitis y/o abscesos, así como también aquellos para establecer las pautas en la escogencia de la antibiótico terapia y su real eficacia profiláctica en los accidentes escolopéndricos (Fung y col. 2011).

Como se ha venido insistiendo (Acosta y Cazorla 2004), la elevada prevalencia de este tipo de accidentes debe ser motivo para estimular el registro de los mismos, su estudio y seguimiento adecuado por parte del personal médico, tanto del medio rural como urbano, de manera tal de poder comprender su dinámica de ocurrencia. Por otra parte, las autoridades sanitarias deben diseñar planes y programas de vigilancia y control, implementándose planes educativos de prevención, tomando como base los datos arrojados en el presente estudio. En este sentido, dentro de las normas preventivas, debe notificarse la limpieza de escombros y vegetación alrededor de las viviendas que sirven de escondite a los centí-

pedos, así como el uso de guantes y botas (Rodríguez-Acosta y col. 2000a, 2000b; Bush y col. 2001; Vazirianzadeh y col. 2007).

Agradecimientos: Alirio Trasmonte por Diseño gráfico. Pobladores de Adícora y, particularmente, a los Sres. C. Raaz y E. Hurtado, pescadores del área, por su desinteresada ayuda.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

Acosta M., Cazorla D. Envenenamiento por ciempiés (*Scolopendra* sp.) en una población rural del Estado Falcón, Venezuela. Rev Inv Clín. 2004;56:712-717.

Barroso E., Hidaka A., Dos Santos A., Matos J., Brito de Sousa A., Rodrigues Valente J., Amoras A., Oliveira P. Accidentes por centopéa notificados pelo "Centro de Informacoes Toxicológicas de Belém", num period de dois anos. Rev Soc Bras Med Trop. 2001;34:527-530.

Botero D., Restrepo M. Parasitosis Humanas. 4ª Ed. Medellín, Colombia: Corporación Para Investigaciones Biológicas. 2003.

Bush S., Bradley K., Norris R., Stokwell S. Centipede envenomation. Wilderness Environ Med. 2001;12:93-99.

Cazorla D., Loyo J., Lugo L., Acosta M. Aspectos clínicos, epidemiológicos y del tratamiento de 10 casos de envenenamiento por raya marina en Adícora, península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela. Rev Inv Clín. 2009;61:11-17.

Cazorla D., Loyo J., Lugo L., Acosta M. Aspectos clínicos, epidemiológicos y de tratamiento de cinco casos de envenenamiento por erizos de mar en Adícora, península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela. Bol Malariol San Amb. 2010;50:125-131.

Chao J. 2002. Revision on Scolopendromorpha (Chilopoda) from Taiwan [Tesis de Maestría]. Taiwán: National Sun Yat-Sen University; 2002.

Dugon M., Wallace A. Comparative studies on the structure and development of the venom-delivery system of centipedes, and a hypothesis on the origin of this evolutionary novelty. Evolution & Development. 2012;14:128-137.

Edgecombe G., Giribet G. Evolutionary Biology of Centipedes (Myriapoda: Chilopoda).

Annu Rev Entomol. 2007;52:151-170.

Ewel J., Madriz A., Tosi Jr J. Zonas de Vida de Venezuela. Memoria explicativa sobre el mapa ecológico. Caracas, Venezuela: Editorial Sucre, 1976.

Fung H., Lam S., Wong O. Centipede bite victims: a review of patients presenting to two emergency departments in Hong Kong. Hong Kong Med J. 2011;17:381-385.

Isbister G. Other arthropods. En: Dart R., Editor. Medical Toxicology. 3th Ed. Philadelphia, EUA: Lippincott William & Wilkins; 2004. p.1606-1620.

Knysak I., Martins R., Bertim C. Epidemiological aspects of centipede (Scolopendromorpha: Chilopoda) bites registered in Greater S. Paulo, SP, Brazil. Rev Saúde Pública. 1998;32:514-518.

Lin T., Yang C., Yang G., Tsai W., Deng J. Features of centipede bites in Taiwan. Trop Geogr Med. 1995;47:300-302.

Lovcheva M., Zlateva S., Marinov P., Sabeva Yu. Toxoallergic reactions after a bite from myriapoda, genus *Scolopendra* in Varna region during the period 2003-2007. J of IMAB. 2008;14:79-82.

Loyo J., Lugo L., Cazorla D., Acosta M. Envenenamiento por pez escorpión (*Scorpaena plumieri*) en una comunidad pesquera y turística de la península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela: aspectos clínicos, epidemiológicos y del tratamiento. Invest Clín. 2008;49:299-307.

Machado-Allison A., Rodríguez-Acosta A. Los Animales venenosos y ponzoñosos de Venezuela. 1a edición. Caracas, Venezuela: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la

Universidad Central de Venezuela, 1997.

Rodríguez-Acosta A., Gassette J., González A., Ghisoli M. Centipede (*Scolopendra gigantea* Linnaeus 1758) envenomation in a newborn. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2000a;42:341-342.

Rodríguez-Acosta A., Ghisoli M., Gassette J., González A., Reyes M. Venezuelan outbreak of venomous accidents produced by centipedes (*Scolopendra gigantea* Linnaeus 1758) (Scolopendromorpha: Scolopendrinae). Acta Biol Venez. 2000b;20:67-70.

Serinken M., Erdur B., Sener S., Kabay B., Alper C. A case of mortal necrotizing fasciitis of the Trunk resulting from a centipede (*Scolopendra moritans*) Bite. Internet J Emergency Med. 2005;2:2.

Undheim E., King G. On the venom system of centipedes (Chilopoda), a neglected group of venomous animals. Toxicon. 2011;57:512-524.

Uzel A., Steinmann G., Bertino R., Korsaga A. Necrotizing fasciitis and cellulitis of the upper limb resulting from centipede bite: two case reports. Chir Main. 2009;28:322-225.

Vazirianzadeh B., Rahmani A., Moravvej S. Two cases of Chilopoda (Centipede) biting in human from Ahwaz, Iran. Pak J Med Sci. 2007;(Part-II) 23:956-958.

Wenhua R., Shuangguan Z., Daxiang S., Kaiya Z., Guang Y. Induction, purification and characterization of an antibacterial peptide scolopendrin I from the venom of centipede *Scolopendra subspinipes mutilans*. Indian J Biochem Biophys. 2006;43:88-93.

Yildiz A., Biceroglu S., Yakut N., Bilir C., Akdemir R., Akilli A. Acute myocardial infarction in a young man caused by centipede sting. Emerg Med. 2006;J.23:e30.

**Injuria pulmonar aguda en la intoxicación por ácido acetilsalicílico.  
Caso clínico y revisión bibliográfica**  
**Acute lung injury due to acetylsalicylic acid poisoning. Case report and review**

Di Nardo, Victoria A.\*; Cortese, Silvia; Risso, Marina; Damín, Carlos

Hospital General de Agudos J.A. Fernández. División Toxicología. Cerviño 3356 (1425). Capital Federal. Buenos Aires. Argentina.  
\*victoria2201@hotmail.com

Recibido: 5 de diciembre de 2011  
Aceptado: 24 de mayo de 2012

**Resumen.** La intoxicación por salicilatos frecuentemente no es tenida en cuenta como causa de edema pulmonar no cardiogénico y de alteración del sensorio en pacientes adultos. Se describe el caso de una mujer de 52 años de edad, la cual presentó dos episodios de edema pulmonar no cardiogénico habiendo requerido para su manejo, asistencia ventilatoria mecánica. La presentación clínica de la intoxicación fue reconocida al ingreso al servicio de urgencias y llevó al diagnóstico correcto. Se le realizó hemodiálisis y alcalinización urinaria llevando a una rápida resolución del edema pulmonar. Varios aspectos de la presentación clínica sugirieron que la paciente tenía una intoxicación crónica, una condición que a menudo no es diagnosticada oportunamente, lo que contribuye al aumento de la morbi-mortalidad en estos pacientes.

Frente a un caso de edema pulmonar agudo no cardiogénico debe considerarse la posibilidad de intoxicación con salicilatos, porque la institución rápida de una terapia apropiada, incluyendo la hemodiálisis, una vez establecido el diagnóstico, es un factor determinante de los resultados en esta grave intoxicación.

**Palabras claves:** Intoxicación; Acido acetilsalicílico; Edema agudo de pulmón; Hemodiálisis.

**Abstract.** Salicylate intoxication is frequently overlooked as a cause of noncardiogenic pulmonary edema and altered mental status in adult patients. We described the case of a 52 years-old woman who presented two episodes of recurrent non-cardiogenic pulmonary edema requiring intubation. On admission, recognition of the clinical syndrome in the emergency department led to the correct diagnosis of salicylate intoxication. The patient was successfully treated with hemodialysis and urinary alkalinization, leading to rapid resolution of pulmonary edema and extubation. Several aspects of the clinical presentation suggest that the patient suffered from chronic salicylism, a condition often misdiagnosed or diagnosed late in the course of disease, contributing to substantial morbidity and mortality in these patients.

This poisoning should be considered in the differential diagnosis of acute pulmonary edema not cardiogenic and altered sensorium because rapid institution of appropriate therapy, including hemodialysis, once the diagnosis is established is an important determinant of outcome in this serious disorder.

**Keywords:** Intoxication; Salicylate; Pulmonary edema; Hemodialysis.

## INTRODUCCIÓN

La intoxicación por salicilatos puede llevar a una amplia variedad de manifestaciones clínicas. La presencia de síntomas comunes como náuseas, vómitos, *tinnitus*, hiperventilación y acidosis metabólica son frecuentes en la forma aguda. En la forma crónica, los más frecuentemente involucrados son pacientes ancianos que ingieren sobredosis no intencionales de aspirina, para aliviar afecciones tales como dolores articulares. Ciertas manifestaciones clínicas como las pulmonares y neurológicas pueden confundirse con otras enfermedades

resultando en un retardo en el diagnóstico y en la instauración de un tratamiento adecuado. Por tal motivo, una historia de uso crónico de aspirina, que a menudo no es informada por los pacientes, es un importante dato que se debe pesquisar en el interrogatorio cuando nos encontramos ante un paciente que se presenta con alteración del estado mental o edema agudo de pulmón sin causa aparente, dado que esta intoxicación debe ser considerada entre los posibles diagnósticos diferenciales además de otras causas clínicas, como

demencia, encefalopatía, cetoacidosis diabética, insuficiencia cardíaca o fiebre de causa desconocida, que suelen ser erróneamente interpretadas como causantes del cuadro.

El primer reporte de edema agudo de pulmón en un hombre sin patología pulmonar fue descrito por Granville-Grossman (Granville-Grossman y Sergeant 1960). El primero en documentar que el edema agudo de pulmón no cardiogénico existía sin aumento de la presión capilar pulmonar fue Hrnicek (Hrnicek y col. 1974).

Anderson y colaboradores (1976) presentaron una revisión de 73 casos de pacientes con intoxicación con salicilatos, siete de los pacientes presentaban edema pulmonar y en uno de ellos, el monitoreo hemodinámico mostró una presión capilar normal.

Mediante experimentos en ovejas se arribó a la conclusión que los salicilatos generaban un "fuga" a nivel de la membrana alveolo-capilar que permitía la trasudación de líquido desde el espacio intravascular al alveolar.

El edema pulmonar se produce por el daño de la membrana vascular y el mecanismo por el cual se genera es especulativo. Se sugiere que los salicilatos podrían estimular al sistema nervioso produciendo un incremento transitorio en la presión arterial pulmonar lo cual llevaría a alterar la permeabilidad capilar, esto concluiría en edema pulmonar. Un mecanismo similar se plantea para el edema pulmonar de origen neurogénico (Theodore y Robin 1976). Luego que se establece el edema alveolar, el vasoespasmo resuelve, con lo cual las presiones vasculares permanecen bajas o normales. Siguiendo la misma línea se encuentra Moss (1974), quien postuló que la estimulación del sistema nervioso central mediaría la vasoconstricción postcapilar en la circulación pulmonar, resultando en edema pulmonar con presión Wedge normal.

Además de estos mecanismos propuestos, se plantea que la inhibición de la ciclooxigenasa por parte de los salicilatos conlleva al aumento del ácido araquidónico, resultando en aumento de la producción de leucotrienos, quienes son capaces de desencadenar una cascada de eventos inflamatorios (Lee 1992). El leucotrieno LTB4 aumenta la permeabilidad microvascular resultando en edema del tejido en presencia de neutrofilos (Stenson y Parker 1980; Staub y col. 1985; Yoshimura y col. 1993). Otros leucotrienos como LTC4, LTCD4, LTCE4 también se relacionan con el aumento de la permeabilidad capilar y están

implicados en la fisiopatología del distrés respiratorio del adulto (Matthay y col. 1984). Se postula que éstos podrían modular la producción de citoquinas y de esta manera reclutar y activar células encargadas de las respuestas inmunes (Marcinkiewicz y Chain 1993; Rola-Pleszczynski y col. 1993)

En base a estos mecanismos se ha postulado que la intoxicación crónica con salicilatos puede llevar a una excesiva producción de leucotrienos, los cuales son el gatillo para desencadenar la respuesta inflamatoria caracterizada por incremento de la permeabilidad vascular pulmonar seguida de reclutamiento y activación de los neutrofilos y otras células en el pulmón.

Se alude a que las prostaglandinas podrían jugar un rol en la regulación de la permeabilidad vascular por estar implicadas en el mantenimiento de la integridad de la microcirculación pulmonar (Vane y Piper 1971). Los salicilatos al inhibir la síntesis de prostaglandinas influyen de forma negativa en este mecanismo protector. Además, las plaquetas tienen una función protectora del endotelio y los salicilatos causan una alteración de la función plaquetaria, pudiendo afectar indirectamente la función del endotelio (Johnson 1971).

Es importante destacar que el edema agudo pulmonar no cardiogénico y la alteración del estado mental son manifestaciones comunes de la intoxicación crónica por aspirina (Hollander 1998).

Los pacientes tabaquistas, con historia de ingesta crónica de aspirina, acidosis metabólica y síntomas neurológicos tienen mayor riesgo de desarrollar esta forma de presentación (Glisson y col. 2011).

La hemodiálisis y alcalinización urinaria son métodos de tratamiento efectivo. (Cohen y col. 2000).

En base a lo descrito, se presenta el un caso de intoxicación crónica con ácido acetilsalicílico, en una mujer de 52 años que ingresó con manifestaciones neurológicas y pulmonares que mejoraron francamente con el tratamiento adecuado.

### **CASO CLINICO**

Paciente de 52 años con antecedentes de tabaquismo y depresión, en tratamiento con clonazepam y fluoxetina. Sin antecedentes de enolismo, ni de abuso de drogas.

Con internación previa en el mes de julio del 2010 debido a una intoxicación crónica con aspirina. Del interrogatorio a la familia se había

definido el abuso crónico de analgésicos por parte de la paciente, con una ingesta diaria de aproximadamente 100 mg/kg durante 2 días. En dicha ocasión presentó insuficiencia respiratoria con criterios de distrés respiratorio, con PAFI <200, requiriendo la colocación de un tubo orotraqueal y asistencia ventilatoria mecánica, también presentó de manera asociada inestabilidad hemodinámica con requerimiento de inotrópicos.

Además, se constató fiebre y se determinó una salicilemia de 49 mg/dl.

El 5 de febrero del 2011, siete meses posteriores a la primera internación, ingresó nuevamente por disnea clase funcional III-IV, evolucionó con deterioro del sensorio, mala mecánica ventilatoria con utilización de músculos accesorios.

Al examen físico se encontró afebril, tensión arterial sistólica de 70 mmHg, FC 110 por min, FR 35 respiraciones por min. En la auscultación pulmonar presentó rales crepitantes bibasales. No presentó ingurgitación yugular, galope o soplos, hepatomegalia o edemas periféricos.

Laboratorio: acidosis metabólica con pH 7,30, pCO<sub>2</sub> 40 mmHg, pO<sub>2</sub> 66 mmHg, HCO<sub>3</sub> 19 mEq/l, saturación 90%, anión gap 18 mEq/l.

Acido láctico 5 mEq/l, Quick 38%, KPTT 39 seg, Na<sup>+</sup> 146 mEq/l, K<sup>+</sup> 2,5 mEq/l, glucosa 95 mg/dl, cloruros 109 mEq/l, creatinina 1,2 mg/dl, GB 20.000 mm<sup>3</sup>, hemoglobina 14 g/dl, osmolaridad plasmática normal.

Salicilemia 42,8 mg/dl, acetaminofeno 11 µg/dl, Rx tórax difusos infiltrados intersticiales bilaterales, ECG: taquicardia sinusal.

Se realizó la estabilización inicial requiriendo manejo de vía aérea, asistencia ventilatoria mecánica e inotrópicos; además, se le administró plasma fresco congelado. Se repitió el laboratorio evidenciándose mayor descenso del pH 7,17, pCO<sub>2</sub> 62 mmHg, pO<sub>2</sub> 88 mmHg, HCO<sub>3</sub> 22 mEq/l, saturación 93%, FiO<sub>2</sub>% 100 con PAFI 88.

Por la fuerte sospecha diagnóstica de edema agudo de pulmón no cardiogénico causado por intoxicación crónica con aspirina, se decidió realizar alcalinización urinaria y hemodiálisis.

A las 24 hs de la presentación se determinó una salicilemia de 10 mg/dl, con HCO<sub>3</sub> 25 mEq/l y anión gap 13 mEq/l.

Luego de instituir el tratamiento la paciente presentó mejoría clínica y evolucionó favorablemente con alta hospitalaria en 7 a 8 días.

## CONCLUSIONES

El médico debe estar alerta para sospechar esa posibilidad diagnóstica cuando un paciente, sobre todo adulto, se presenta con edema agudo de pulmón no cardiogénico y/o alteración del estado mental sin causa aparente, debido a que la mortalidad en estos pacientes aumenta a 25% si el diagnóstico es tardío (Heffner y col. 1978).

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

Anderson R.J., Potts D.E., Gabow P.A., Rumack B., Schrier R. Unrecognized adult salicylate intoxication. *Ann Intern Med.* 1976;85:745-748.

Broderick T., Reinke R., Goldman E. Salicylate-induced Pulmonary Edema. *Am J Roentgenol.* 1976;127:865-866.

Cohen D., Post J., Ferroggiaro A., Perrone J., Foster M. Chronic Salicylism Resulting in Noncardiogenic Pulmonary Edema Requiring Hemodialysis. *Clinical Nephrology Teaching Case. American Journal of Kidney Diseases.* 2000;36(3):1-4.

Glisson J., Vesa T., Bowling M. Current Management of Salicylate-Induced Pulmonary Edema. *Southern Medical Journal.* 2011;104(3):225-232.

Granville-Grossman K.L., Sergeant H.G.S. Pulmonary edema due to salicylate intoxication. *Lancet.* 1960;1:575-577.

Greenbaum D., Togba J., Blecker M., Grace W. Salicylate Intoxication: An Unusual Presentation. *Chest.* 1974;66:575-576.

Heffner J., Starkey T., Anthony P. Salicylate-Induced Noncardiogenic Pulmonary Edema. *The Western Journal Of Medicine.* 1978;130(3):263-266.

Herres J., Ryan D., Salzman S. Delayed salicylate toxicity with undetectable initial levels after large-dose aspirin ingestion. *American Journal of Emergency Medicine.* 2009;27:1173-1173.

Higgins R.M., Connolly J.O., Hendry B.M. Alkalinization and hemodialysis in severe salicylate poisoning: comparison of elimination techniques in the same patient. *Clin Nephrol.* 1998;50(3):178-83.

Hollander J.E. Cocaine. En: Vicello P. (ed) Emergency Toxicology, Segunda edición. Lippincott – Raven, Philadelphia, 1998. p.551-558.

Hrncicek G., Skelton S., Miller W. Pulmonary Edema and Salicylate Intoxication. *JAMA*. 1974;230:866-867.

Johnson S.A. (Ed). *The Circulating Platelet*. New York, Academic Press, 1971.

Leatherman J.W., Schmitz P.G. Fever, hyperdynamic shock, and multiple-system organ failure. A pseudo-sepsis syndrome associated with chronic salicylate intoxication. *Chest*. 1991;100(5):1391-6.

Lee T.H. Mechanisms of aspirin sensitivity. *Am Rev Resp Dis*. 1992;145:34-36.

Marcinkiewicz J., Chain B.M. Differential cytokine regulation by eicosanoids in T cells primed by contact sensitization with TNP. *Cell Immunol*. 1993;149:303-314.

Matthay M., Eschebacher W., Goetzel E. Elevated concentrations of leukotriene D4 in pulmonary edema fluid of patients with adult respiratory distress syndrome. *J Clin Immunol*. 1984;8:479-484.

Moss G. Shock lung: a disorder of the central nervous system? *Hosp Practice*. 1974;9:77-86.

Proudfoot A.T., Krenzelok E.P., Brent J. Does urinary alkalinization increase salicylate elimination? If so, why? *Toxicol Rev*.

2003;22(3):129-36.

Proudfoot A.T., Krenzelok E.P., Vale J.A. Position paper on urine alkalinization. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2004;42(1):1-26.

Rola –Pleszczynski M., Thivierge M., Cagnon N. Differential regulation of cytokine and cytokine receptor genes by PAF, LTB4 and PGE2. *J Lipid Mediat*. 1993;6:175-181.

Staub N.C., Schlitz E.L., Koike K. Effect of neutrophil migration induced by leukotriene B4 on protein permeability in sheep lung. *Fed Proc*. 1985;44:30-35.

Stenson W.F., Parker C.W., Monohydroxyeicosatetraenoic acids (HETEs) induce degranulation of human neutrophils. *J Immunol*. 1980;124:2100-2104.

Theodore J., Robin E.D. Speculations on neurogenic pulmonary edema (NPE). *Am Rev Respir Dis*. 1976;113:405-411.

Vane J., Piper P. Release of prostaglandins by the lung and other organs. *Ann NY Acad Sci*. 1971;180:363-381.

Willoughby D. Effects of prostaglandins F2 and E on vascular permeability. *J Path Bact*. 1968;96:381-387.

Yoshimura K., Nakagawa S., Koyama S. Leukotriene B4 induce lung injury in the rabbit: role of neutrophils and effect of indomethacin. *J Appl Physiol*. 1993;74:2174-2179.

## RESÚMENES DE TESIS

---

### **Exposición ocupacional a los agroquímicos. Evaluación del daño genético y su relación con procesos de estrés oxidativo**

Simoniello, M. Fernanda

Cát. Toxicología, Farmacología y Bioquímica Legal. Fac. Bioquímica y Cs. Biológicas. UNL, Santa Fe. Argentina & CIGETOX, Citogenética Humana y Genética Toxicológica. INFIBIOC. Depto. Bioquímica Clínica. FFyB. UBA. Buenos Aires. Argentina  
fersimoniello@yahoo.com.ar

Aunque el uso de plaguicidas es necesario, resulta fundamental evaluar los riesgos para la salud en los seres humanos que están profesional y/o ambientalmente expuestos a estos agroquímicos. Esta exposición puede ocurrir durante la preparación de la mezcla, y/o lavado de los equipos de fumigación y en el momento de su aplicación.

El objetivo fue utilizar un conjunto de biomarcadores para evaluar el daño inducido por la exposición de humanos a mezclas simultáneas de plaguicidas empleados en los cultivos de la provincia de Santa Fe, con el fin de estudiar los posibles mecanismos involucrados en su toxicidad y su relación con aspectos laborales de la población en estudio.

Se evaluaron dos poblaciones de trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas: a) 105 trabajadores hortícolas y 112 donantes como grupo control; b) 48 aplicadores de plaguicidas en cultivos extensivos y 50 sujetos que conformaron el grupo control.

La valoración del daño generado por exposición directa a mezclas de pesticidas se realizó mediante el empleo de biomarcadores enzimá-

ticos (colinesterasas), de estrés oxidativo (catalasa, glutatión, lipoperoxidación) y de daño al ADN (ensayo Cometa con y sin FPG, ensayo de reparación, micronúcleos en mucosa bucal). Los resultados mostraron alteraciones significativas en el estado oxidativo en los trabajadores expuestos respecto a los controles, que se correlacionó con el daño al ADN.

La antigüedad laboral y el uso de equipo de protección fueron factores que demostraron estar relacionados con el daño observado.

En conclusión: a) se debe recomendar a los agricultores el uso de medidas de protección durante todo tipo de manipulación de plaguicidas; b) se propone que los individuos expuestos sean monitoreados de manera frecuente para minimizar o reducir potenciales efectos dañinos de los pesticidas en el ADN; c) se debe continuar con la evaluación de los riesgos asociados con la exposición a pesticidas en la población expuesta de nuestro país.

Tesis presentada para optar por el título de Doctor de la Universidad Nacional del Litoral en el área Ciencias Biológicas. Julio de 2011.

Directores: M. Carballo y E. Kleinsorge

## Desarrollo de metodologías de preconcentración/fluorescencia molecular: monitoreo ambiental y biológico de cadmio y níquel como marcadores de exposición y/o adicción al tabaco

Talio, María Carolina

En la actualidad, el consumo de tabaco constituye la primera causa evitable de morbi-mortalidad en el mundo, ocasionando 5 millones de defunciones por año. La prevalencia del consumo de tabaco en Argentina muestra un progresivo y lento aumento, principalmente entre los grupos de menores recursos, las mujeres y los adolescentes. Esta adicción ocasiona en nuestro país más de 40.000 muertes cada año y 6.000 defunciones por tabaquismo pasivo.

El humo de tabaco constituye una mezcla compleja de más de 4.000 sustancias químicas conocidas entre las que se encuentran numerosos tóxicos metálicos. Un cigarrillo contiene entre 1 y 2 mg de cadmio que se libera como óxido de cadmio; el 10% del óxido de cadmio inhalado se deposita en los tejidos pulmonares. El cadmio ocasiona contaminación ambiental e industrial y, en el ser humano actúa inhibiendo enzimas encargadas de los procesos de reparación del ADN; es un irritante local, inhibe la absorción intestinal de calcio impidiendo su depósito en los tejidos óseos y se acumula en distintos órganos, principalmente en riñón, hígado, placenta y eritrocitos. Tiene una vida media prolongada, de aproximadamente 20 a 30 años. Por otro lado, la exposición crónica a compuestos de níquel puede ocasionar las siguientes patologías: alergias, rinitis, sinusitis, enfermedades respiratorias, cáncer en la cavidad nasal, de pulmón y de otros órganos. En particular, los fumadores están expuestos a compuestos de este metal en cantidades que fluctúan entre 2 a 6,2 µg/cigarrillo. Aproximadamente del 10 al 20 % es liberado en el humo de cigarrillo y puede ser inhalado como carbonilo de níquel.

En el presente trabajo de Tesis Doctoral se desarrollaron metodologías para la determinación de los analitos propuestos, cadmio y níquel, empleando fluorescencia molecular, precedida de una etapa de preconcentración/separación/sensibilización. Las mismas fueron satisfactoriamente aplicadas a muestras biológicas, ambientales y en humo de tabaco,

representando una alternativa a los métodos convencionales de análisis de metales a niveles de vestigios, en las áreas de análisis clínico y monitoreo ambiental, empleando un instrumental accesible en laboratorios de control.

Las concentraciones de cadmio y níquel halladas en orina y saliva fueron significativamente superiores en fumadores que en no fumadores; a su vez los fumadores pasivos mostraron concentraciones intermedias de ambos metales y la mayor exposición se relacionó con el hábito de masticar tabaco.

Los parámetros clínicos anormales y/o patológicos identificados en las muestras biológicas no interfirieron en la determinación de los metales. Las metodologías desarrolladas pudieron ser aplicadas al total de las muestras biológicas, confirmando la robustez de las mismas. Los estudios de correlación nos permiten aseverar que la exposición al humo de tabaco constituye un riesgo para la salud.

Las concentraciones de cadmio halladas en muestras de agua de la región, destinadas a consumo humano, fueron inferiores a los niveles permitidos por la legislación nacional, concluyéndose que las mismas no constituyen una fuente de exposición al tóxico metálico.

La metodología desarrollada para la cuantificación de níquel en la corriente principal de humo de cigarrillos, resultó adecuada para el control de este metal en productos de tabaco debido a su adecuada selectividad y elevada sensibilidad. Las concentraciones de níquel halladas en humo de cigarrillos mostraron una buena correlación con las de níquel urinario de fumadores de las diversas marcas de cigarrillos analizadas. Se concluye que el hábito de fumar constituye una severa exposición a este tóxico metálico, independientemente del tipo de tabaco que se consuma. No se obtuvo información concluyente respecto de la incidencia de las microperforaciones del filtro sobre los niveles de níquel en el humo de la corriente principal.

En base a los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Tesis Doctoral, se puede

concluir que la exposición de los fumadores a cadmio y níquel es severa. Por lo tanto, los organismos de control y agentes de salud deben aunar esfuerzos para desalentar el consumo de cigarrillos y generar ambientes 100% libres de humo de tabaco.

Como las conclusiones a las que se han arribado en este trabajo involucran un riesgo para la salud de la comunidad, se tomó la determinación de realizar talleres de prevención y

concientización en Colegios Secundarios de San Luis, en el marco del Proyecto de Extensión "Tabaquismo: S.O.S. Jóvenes", aportando argumentos científicos genuinos y propios que orienten a nuestros jóvenes hacia una libre y conciente elección en este tema.

Tesis presentada para optar por el título de Doctor de la Universidad Nacional de San Luis. Octubre de 2011.

Directora: Dra. Liliana Patricia Fernández

Co-Directora: Dra. Adriana Noemí Masi

## INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

*Acta Toxicológica Argentina* (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 0327-9286) es el órgano oficial de difusión científica de la Asociación Toxicológica Argentina. Integra, desde el año 2007, el Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas y se puede acceder a sus artículos a texto completo a través de SciELO Argentina.

*Acta Toxicológica Argentina* tiene por objetivo la publicación de trabajos relacionados con las diferentes áreas de la Toxicología, en formato de artículos originales, reportes de casos, comunicaciones breves, actualizaciones o revisiones, artículos de divulgación, notas técnicas, resúmenes de tesis, cartas al editor y noticias.

**Los artículos originales** son trabajos de investigación completos y deben presentarse respetando las siguientes secciones: Introducción; Materiales y métodos; Resultados y Discusión (que pueden integrar una sección conjunta).

**Los reportes de casos** son descripciones de casos clínicos que por sus características signifiquen un aporte importante a la Toxicología.

**Las comunicaciones breves** son trabajos de menor extensión pero con connotación toxicológica novedosa y que signifiquen un aporte al campo toxicológico.

**Las revisiones o actualizaciones** comprenden trabajos en los cuales se ha realizado una amplia y completa revisión de un tema importante y/o de gran interés actual en los diferentes campos de la toxicología.

**Los artículos de divulgación** y artículos especiales son comentarios de diversos temas de interés toxicológico.

**Las notas técnicas** son descripciones breves de técnicas analíticas o dispositivos nuevos avalados por trabajos experimentales concluyentes.

**Los resúmenes de tesis:** son resúmenes ampliados que describen tesis de Maestría o Doctorales aprobadas. Estas deben incluir copia de la aprobación de la tesis con la declaración jurada del autor y su director. El texto no debe superar los 1000 caracteres.

*Acta Toxicológica Argentina* (en adelante *Acta*), publicará contribuciones en español, portugués y/o inglés. Todas serán evaluadas por al menos dos revisores; la selección de los mismos será atributo exclusivo de los editores. Este proceso determinará que el mencionado Comité opte por rechazar, aceptar con cam-

bios o aceptar para su publicación el trabajo sometido a su consideración. La identidad de autores y revisores se mantendrá en forma confidencial.

### Envío de manuscritos

Los manuscritos se pueden remitir por vía electrónica a: envios.acta.ATA@gmail.com o en CD-ROM por correo postal a: Alsina 1441, oficina 302, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (C1088AAK).

En el caso de envío electrónico indicar en el asunto: "manuscrito para *Acta*" y en el cuerpo del mensaje indicar el título del trabajo y los nombres y apellidos de todos los autores. Adjuntar el manuscrito (archivo de Word 2003 o superior) redactado según las instrucciones para los autores que se detallan más abajo.

Junto con el envío del manuscrito se deberá enviar una carta al Director en formato Word, con el nombre de todos los autores solicitando la consideración del artículo para su publicación. En la carta deberá constar claramente que:

- El trabajo remitido no ha sido publicado en ningún medio y no será enviado a otra revista científica o a cualquier otra forma de publicación, mientras dure la evaluación en *Acta*.
- Todos los autores son responsables del contenido del artículo.
- Todos los autores manifiestan si hubo o no, conflicto de intereses. De haber financiación externa, aclarar cuál fue la fuente. Asimismo, señalar si uno o más de los autores tiene alguna relación con la compañía comercial cuyo producto/s fueron empleados o son mencionados en el estudio realizado.
- En caso que el artículo sea publicado, todos los autores ceden los derechos de autor al *Acta*.

**No se podrá iniciar el proceso editorial si la carta no contiene todos los puntos señalados.**

Aspectos generales en la preparación del manuscrito para artículo original.

Los manuscritos deberán redactarse con procesador de texto (Microsoft Word versión 2003 o superior), a doble espacio (incluso los resúmenes, referencias y tablas) con un tamaño

mínimo de letra Arial en 12 puntos. Las páginas deberán numerarse desde la portada. Las letras en negrita o itálica se usarán sólo cuando corresponda.

En la primera página se indicará: título del trabajo (mayúscula), nombres y apellidos completos de todos los autores; lugar de trabajo (nombre de la institución y dirección postal); de haber autores con distintos lugares de trabajo se colocarán superíndices numéricos -no encerrados entre paréntesis- junto a los nombres, de manera de identificar a cada autor con su respectivo lugar de trabajo; fax y/o correo electrónico del autor responsable de la correspondencia (que se indicará con un asterisco en posición de superíndice ubicado junto al nombre). En la segunda página se incluirá el título en inglés y el resumen en el idioma del artículo y en inglés, seguido cada uno de ellos de una lista de cuatro palabras clave, en el idioma correspondiente. Si el trabajo estuviese escrito en inglés, deberá tener un resumen en español. Las palabras clave iniciarán con mayúscula e irán separadas por punto y coma.

**Introducción.** Incluirá antecedentes actualizados acerca del tema en cuestión y los objetivos del trabajo definidos con claridad.

**Materiales y métodos.** Contendrá la descripción de los métodos, aparatos, reactivos y procedimientos utilizados, con el detalle suficiente para permitir la reproducción de los experimentos.

**Consideraciones éticas.** En todos los estudios clínicos se deberá especificar el nombre del Comité de Ética e Investigación que aprobó el estudio y que se contó con el consentimiento escrito de los pacientes. En todos los estudios con organismos no humanos, se deberán especificar los lineamientos éticos con respecto al manejo de los mismos durante la realización del trabajo.

**Análisis estadístico.** Se deberán informar las pruebas estadísticas con detalle suficiente como para que los datos puedan ser verificados por otros investigadores y fundamentar el empleo de cada una de ellas. Si se utilizó un programa estadístico para procesar los datos, éste deberá ser mencionado en esta sección.

**Resultados.** Se presentarán a través de una de las siguientes formas: en el texto, o mediante tabla/s y/o figura/s. Se evitarán repeticiones y se destacarán sólo los datos importantes. Se dejará para la sección Discusión la interpretación más extensa.

Las **tablas** se presentarán en hoja aparte,

numeradas consecutivamente con números arábigos, con las leyendas y/o aclaraciones que correspondan al pie. Las llamadas para las aclaraciones al pie se harán empleando números arábigos entre paréntesis y superíndice. Sólo los bordes externos de la primera y la última fila y la separación entre los títulos de las columnas y los datos se marcarán con línea continua. No se marcarán los bordes de las columnas. Asegúrese que cada tabla sea citada en el texto. Las **figuras** se presentarán en hoja aparte, numeradas consecutivamente con números arábigos. Los dibujos deberán estar en condiciones que aseguren una adecuada reproducción. Los gráficos de barras, tortas o estadísticas deberán tener formato GIF. Los números, letras y signos tendrán dimensiones adecuadas para ser legibles cuando se hagan las reducciones necesarias. Las referencias de los símbolos utilizados en las figuras deberán ser incluidas en el texto de la leyenda.

Las **fotografías** deberán ser realizadas en blanco y negro, con buen contraste, en papel brillante y con una calidad suficiente (mínimo 300 dpi) para asegurar una buena reproducción. Los dibujos originales o las fotografías tendrán al dorso los nombres de los autores y el número de orden escritos con lápiz.

Las fotos para la versión electrónica deberán ser realizadas en el formato JPEG o GIF, con alta resolución. Tanto las figuras como las fotografías deberán ser legibles. El tamaño mínimo será media carta, es decir, 21 x 15 cm, a 300 dpi. En todos los casos se deberá indicar la magnificación utilizada (barra o aumento).

Los epígrafes de las figuras se presentarán exclusivamente en una hoja aparte, ordenadas numéricamente y deberán expresar específicamente lo que se muestra en la figura.

**Abreviaturas.** Se utilizarán únicamente abreviaturas normalizadas. Se evitarán las abreviaturas en el título y en el resumen. Cuando en el texto se emplee por primera vez una abreviatura, ésta irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

**Unidades de medida.** Las medidas de longitud, talla, peso y volumen se deberán expresar en unidades métricas (metro, kilogramo, litro) o sus múltiplos decimales.

Las temperaturas se facilitarán en grados Celsius y las presiones arteriales en milímetros de mercurio.

Todos los valores de parámetros hematológicos y bioquímicos se presentarán en unidades del sistema métrico decimal, de acuerdo con el

Sistema Internacional de Unidades (SI). No obstante, los editores podrán solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores añadan unidades alternativas o distintas de las del SI.

**Nomenclatura.** 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 itálica.

**Discusión.** Se hará énfasis sobre los aspectos del estudio más importantes y novedosos y se interpretarán los datos experimentales en relación con lo ya publicado. Se indicarán las conclusiones a las que se arribó, evitando la reiteración de datos y conceptos ya vertidos en secciones anteriores.

**Agradecimientos.** Deberán presentarse en letra Arial con un tamaño de 10 puntos y en un sólo párrafo.

**Bibliografía.** Las citas bibliográficas se señalarán en el texto mediante el apellido del/los autor/es (hasta dos autores) y el año de publicación todo entre paréntesis, separados por punto y coma en el caso de más de una cita, empezando por la cita más antigua a la más actual. En el caso de más de dos autores se señalará el apellido del primer autor seguido de y col. y el año de la publicación.

Ejemplos:

“La cafeína (1,3,7-trimetilxantina) es la sustancia psicoactiva más consumida en el mundo (Concon 1988; Lewin 1998; Nehlig 1999)”.

“El consenso general es que sería deseable que la ingesta total de cafeína durante el embarazo no supere los 300 mg/día (Organization of Teratology Information Specialists (OTIS) 2001; Kaiser y Allen 2002; Nawrot y col. 2003)”.

Las referencias bibliográficas completas se incluirán al final del manuscrito bajo el título de Bibliografía Citada, en orden alfabético, con el nombre de todos los autores en cada caso.

Ejemplos:

1. **Artículo estándar en publicación periódica**

Halpern S.D., Ubel P.A., Caplan A.L. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002;347(4):284-287.

2. **Libros y monografías**

Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A.. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby, 2002.

3. **Capítulo de libro**

Meltzer P.S., Kallioniemi A., Trent J.M. Chromosome alterations in human solid tumors. En: Vogelstein B., Kinzler K.W., editores. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

4. **Material electrónico**

a. Artículo en publicación periódica en internet

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [en línea]. 2002 Jun. [consulta 12 de Agosto 2002];102(6):[1 p.]. Disponible en: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htmArticle>

b. Página en internet

Cancer-Pain.org [en línea]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [actualizado al 16 de Mayo de 2002; consulta 9 de Julio de 2002]. Disponible en: <http://www.cancer-pain.org/>.

c. Parte de una página de internet

American Medical Association [en línea]. Chicago: The Association; c1995-2002 [actualizado al 23 de Agosto de 2001; consulta 12 de Agosto de 2002]. AMA Office of Group Practice Liaison. Disponible en: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

Para la correcta citación de posibles referencias bibliográficas que pudiesen no citarse en este instructivo, consultar el estilo propuesto por el Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas en “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” disponible en: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

## INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS

---

*Acta Toxicológica Argentina* (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 0327-9286) is the official publication for scientific promotion of the *Asociación Toxicológica Argentina*. It is a member of the *Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas* (Basic Core of Argentinean Scientific Journals) since 2007. Full articles can be accessed through SciELO Argentina electronic library.

The goal of *Acta Toxicológica Argentina* is to publish articles concerning all areas of Toxicology, including original articles, case reports, short communications, revisions, popularization of science articles, technical notes, thesis summaries, letters to the editor and relevant news.

**Original articles** must detail complete research and should be organized into the following sections: Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion (the last two can be combined into one section).

**Case reports** include description of clinical case studies which represent a contribution to the field of Toxicology.

**Short communications** are brief, concise articles that contribute to the respective area of Toxicology.

**Revisions or updates** comprise studies where an extensive revision of a topic of current importance and/or interest has been carried out.

**Articles concerned with popular science and special articles** can comment on a broad range of toxicological topics.

**Technical notes** should briefly describe new devices or analytical techniques validated by conclusive experimental studies.

**Thesis summaries** are sufficiently detailed abstracts of approved doctoral or magisterial thesis. They must include a copy of acceptance and a sworn statement by the author and director, and should not exceed 1,000 characters.

Articles can be submitted to *Acta Toxicológica Argentina* (henceforth *Acta*) in Spanish, Portuguese or English. All submissions will be evaluated by at least two independent reviewers, selected by the editors. The Editorial board will base its decision to reject, accept with changes or accept for publication the submitted article on these reviews. The identity of authors and reviewers will not be disclosed throughout this process.

### Submission of manuscripts

Manuscripts can be submitted in electronic

form by the e-mail address to: [envios.acta.ATA@gmail.com](mailto:envios.acta.ATA@gmail.com), or sent in CD-ROM to the postal address: Alsina 1441, office 302, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (C1088AAK).

For electronic submissions, please include "Manuscript for *Acta*" in the subject. The body of the e-mail should contain the title of the article, as well as the first and last name of all authors. Articles must be attached as Microsoft Word 2003 files or higher, and be in accordance to the guide for authors specified below.

A letter to the Director in Word format in the name of all authors requesting the article be considered for publication also needs to be included. This letter should clearly state that:

- The submitted article has not been published, is not under consideration for publication elsewhere, and will not be sent to another journal or published in any way until the reviewing process in *Acta* concludes.
- All authors are responsible for the content of the article.
- All authors express whether any conflict of interest arose from the study. If they received external funding, the source should be declared. Likewise, any association between authors and commercial companies whose product/s were used or mentioned in the study must be stated.
- If the article is accepted for publication, all authors agree to transfer copyright to *Acta*.

**If one or more of these items are not addressed in the letter the editorial process cannot be initiated.**

### General guidelines in the preparation of manuscripts for original articles

Articles must be written using a word processor (Microsoft Word 2003 or higher) with double-spacing throughout (including abstract, references and tables), and a minimum letter size of Arial 12. Manuscripts must contain page numbers on each page from the first page. The use of bold and italic letters must be limited to the bare minimum necessary.

First page should contain the article title (in capital letters), full name and affiliations of all

authors, workplace (name of institution and postal address; if it differs between authors, numerical superscripts, not in parentheses, next to each author should be used to identify it); fax and/or e-mail address of the corresponding author (signaled by a subscript asterisk next to the name).

Second page must include an English title and the abstract, both in the language of submission and in English, each followed by four key words in the corresponding language. If the article is written in English, then the abstract in Spanish must be provided. Keywords must be headed by capital letters and separated by semicolons.

**Introduction.** It should include updated background references and clearly stated study goals.

**Materials and methods.** This section should describe the methods, devices, reagents and procedures used, sufficiently detailed to enable the experiments to be reproduced.

**Ethical considerations.** All clinical studies must specify the name of the Ethics and Research Committee responsible for the approval of the study, as well as the patients' written consent. Studies involving non human experimental subjects must give assurance that ethical guidelines for the protection of animal handling and welfare were followed.

**Statistical analysis.** The statistical tests employed should be properly explained and justified to allow verification by other researchers. If statistical software was used to process data, it should be mentioned.

**Results** can be showed through one of the following formats: text, tables or figures. Authors should avoid repetition, and only the relevant data should be presented. An extensive interpretation of the results should be left for the Discussion section.

**Tables** must be typed in separate pages and numbered consecutively with Arabic numerals in order of appearance in the text. Legends or explanations should be included as footnotes. Marks for footnotes must be superscript Arabic numerals in parentheses. Continuous lines may be only used for the outer borders of the first and last row and to separate columns and data titles, not for outer borders of columns. Please make sure that each table is cited in the text.

**Figures** should be numbered consecutively with Arabic numerals and presented in separate pages. Drawings must be of good enough quality to ensure adequate reproduction. Bar,

pie or statistical charts must be prepared in GIF format. Numbers, letters and signs within figures must be of the appropriate size to be legible when the final sizing takes place. All signs used must have a reference in the figure caption.

Black-and-white only **photographs** should have proper contrast and a minimum resolution of 300 dpi. Submit all original drawings and photographs in glossy paper with the authors' name and figure number written in pencil in the back. For the electronic submission, photographs should be in high resolution JPEG or GIF formats. Both figures and photographs must be clearly legible. The minimum size for figures is half-letter paper size (21 x 15 cm) at 300 dpi. Magnification must be indicated whether by a scale bar or the magnification number.

Present figure captions in a separate page, accordingly numbered. Only the elements visible in the corresponding figure must be included in the caption.

**Abbreviations.** Authors should only use conventional abbreviations, avoiding their use in the title and abstract. When an abbreviation is first introduced in the text it must be preceded by the full term, except in the case of unit measures.

**Unit measures.** Length, size, weight and volume measures should be expressed according to the metric system (meter, kilogram, liter or their decimal multiples). Temperatures will be provided in degrees Celsius; blood pressure in millimeters of mercury.

All hematological and biochemical parameters should follow the metric system, according to the International System of Units (SI). However, editors could require that alternate units be provided before publication.

**Nomenclature.** For chemicals, authors should primarily adhere to IUPAC norms. Designate organism names according to international norms by stating the unabbreviated genus and species in italic.

**Discussion.** Emphasis should be placed on the most relevant and novel aspects of the study. Interpret experimental data in terms of previous published findings. Include conclusions without repeating data and concepts stated elsewhere.

**Acknowledgements.** Limit to a single paragraph, using Arial 10 lettering.

**References.** Citations in the text consist of the authors' last name (up to two authors) and the year of publication in parentheses. In the case

of more than one citation, list them from the oldest to the newest and separate citations by semicolons. For more than two authors, only cite the first author's last name followed by *et al.* and the year of publication.

Examples:

"Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine) is the psychoactive substance with the largest consumption worldwide (Concon 1988; Lewin 1998; Nehlig 1999)".

"During pregnancy the total consumption of caffeine should not exceed 300 mg/day (Organization of Teratology Information Specialists (OTIS) 2001; Kaiser and Allen 2002; Nawrot *et al.* 2003)".

Full references must be listed alphabetically at the end of the manuscript under the subheading References.

Examples:

1. **Standard article in periodical publications**

Halpern S.D., Ubel P.A., Caplan A.L. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002;347(4):284-7.

2. **Books and monographs**

Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. *Medical microbiology.* 4<sup>th</sup> ed. St. Louis: Mosby, 2002.

3. **Book chapters**

Meltzer P.S., Kallioniemi A., Trent J.M.

Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B., Kinzler K.W., editors. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw-Hill; 2002. P. 93-113.

4. **Electronic material**

a. Article published in an online journal  
Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [on line]. 2002 Jun. [accessed August 12, 2002];102(6):[1 p.]. Available at: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>Article

b. Website

Cancer-Pain.org [online]. New York: Association of Cancer On line Resources, Inc.; c2000-01[updated May 16, 2002; accessed July 9, 2002]. Available at: <http://www.cancer-pain.org/>.

c. Partial website

American Medical Association [online]. Chicago: The Association; c1995-2002 [updated August 23, 2001; accessed August 12, 2002]. AMA Office of Group Practice Liaison. Available at: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

For correct citation please refer to the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" proposed by the International Committee of Medical Journals Directors, available at: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

## INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES

*Acta Toxicológica Argentina* (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 0327-9286) é o órgão oficial de difusão científica da Associação Toxicológica Argentina. Engloba o Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas, tem acesso a artigos e textos completos através da SciELO Argentina. *Acta Toxicológica Argentina* tem como objetivo a publicação de trabalhos relacionados com diferentes áreas da Toxicologia, em artigos originais, relatos de casos, comunicações breves, atualizações ou revisões, artigos de divulgação, resumos da tese, notas técnicas, cartas ao editor e notícias.

**Os artigos originais** são trabalhos de pesquisa completos e devem ser apresentados respeitando as seguintes seções: Introdução; Materiais e métodos; Resultados e Discussão (que podem integrar uma seção anexa).

**Os relatos de casos** são descrições de casos clínicos que tenham em suas características um significado ou aporte importante à Toxicologia.

**As comunicações curtas são trabalhos** de menor extensão, mas com conotação toxicológica inovadora e que aporte ao campo toxicológico.

**Resumos de tese:** Resumos ampliados que descrevem teses de Mestrado e Doutorado aprovadas. Estas devem incluir cópia da aprovação da tese com a declaração juramentada do autor e seu orientador. O texto não deve superar 1000 palavras.

**As revisões ou atualizações** compreendem trabalhos nos quais se tenha realizado uma ampla e completa revisão de um tema importante e/ou de grande interesse atual nos diferentes campos da toxicologia.

**Os artigos de divulgação e artigos especiais** são comentários de diversos temas de interesse toxicológico.

**As notas técnicas** são descrições breves de técnicas analíticas ou dispositivos novos ou apoiados por trabalhos experimentais conclusivos.

*Acta Toxicológica Argentina* (em diante *Acta*) publicará contribuições em espanhol, português e/ou inglês. Todas serão avaliadas por pelo menos dois revisores; a seleção dos mesmos será atributo exclusivo dos editores. Este processo determinará que o mencionado Comitê opte por rejeitar, aceitar com alterações ou aceitar para publicação o trabalho submetido à sua consideração. A identidade dos autores e

revisores será mantida de forma confidencial.

### **Envio de trabalhos**

Os trabalhos podem ser enviados por via eletrônica à: [envios.acta.ATA@gmail.com](mailto:envios.acta.ATA@gmail.com) ou em CD-ROM por correio postal à: Alsina 1441, oficina 302, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (C1088AAK).

No caso de envio eletrônico, indicar no assunto: trabalho para *Acta* e no corpo da mensagem indicar o título do trabalho e os nomes e sobrenomes de todos os autores. Anexar o trabalho (arquivo de Word 2003 ou superior) digitado segundo instruções para autores detalhadas abaixo. Junto com o envio do trabalho deverá ser enviada uma carta ao Diretor em formato Word, com os nomes de todos os autores solicitando a consideração do artigo para publicação. Na carta deverá constar claramente que:

- O trabalho enviado não tenha sido publicado em nenhum outro meio e não será enviado a outra revista científica ou a qualquer outra forma de publicação, enquanto dure a avaliação na *Acta*.
- Todos os autores são responsáveis pelo conteúdo do artigo.
- Todos os autores deverão manifestar se houve ou não conflito de interesses. Se houver financiamento externo, deverá deixar clara a fonte. Assim mesmo, indicar se um ou mais autores tem alguma relação com a companhia comercial cujo produto/s foram empregados ou são mencionados no estudo realizado.
- Em caso do artigo ser publicado, todos os autores cedem os direitos de autor à *Acta*.

### **Não poderá dar-se por iniciado o processo editorial se a carta não contiver todos os pontos indicados.**

Aspectos gerais na preparação do trabalho como artigo original:

Os trabalhos devem ser digitados em processador de texto (Microsoft Word versão 2003 ou superior), **com espaço duplo** (inclusive resumos, referências e tabelas) com tamanho mínimo de letra Arial 12. As páginas deverão ser numeradas desde a capa. As letras em **negrito** ou *itálico* serão usadas somente quando responder.

Na primeira página deverá estar indicado: título do trabalho (maiúscula), nomes e sobrenomes completos de todos os autores; lugar de trabalho (nome da instituição e endereço postal), se houver autores com distintos lugares de trabalho, deverão ser colocados super-índices numéricos, não entre parênteses, junto aos nomes, para identificar cada autor com seu respectivo lugar de trabalho; fax e/ou correio eletrônico do autor responsável correspondente (que será indicado com um asterisco na posição de super-índice localizado junto ao nome).

Na segunda página será incluído título em inglês e o resumo no idioma do artigo e em inglês, seguido cada um deles de uma lista de quatro palavras-chave, no idioma correspondente. Se o trabalho estiver escrito em inglês, deverá apresentar um resumo em espanhol. As palavras-chave devem começar com letra maiúscula e estar separadas por ponto-e-vírgula.

**Introdução.** Deve incluir antecedentes atualizados sobre o tema em questão e objetivos do trabalho definidos com clareza.

**Materiais e métodos.** Deverá conter a descrição dos métodos, equipamentos, reativos e procedimentos utilizados, com detalhes suficientes para permitir a repetição dos experimentos.

**Considerações éticas.** Em todos os estudos clínicos deverá estar especificado o nome do Comitê de Ética e Investigação que aprovou o estudo e que foi realizado com o consentimento escrito dos pacientes. Em todos os estudos com organismos não humanos, devem estar especificadas as linhas éticas com respeito ao manejo dos mesmos durante a realização do trabalho.

**Análises estatísticas.** Devem ser informadas as provas estatísticas com detalhe suficiente para que os dados possam ser revisados por outros pesquisadores descrevendo detalhes de cada uma delas. Se for utilizado um programa estatístico para processar os dados, este deverá ser mencionado nesta seção.

**Resultados.** Deverão ser apresentados através de **uma** das seguintes formas: no texto, ou através de tabelas e/ou figura/s. Deverão ser evitadas repetições e serão destacados somente dados importantes. Deverá ser deixada para a seção Discussão a interpretação mais extensa.

As **tabelas** deverão ser apresentadas em folha à parte, numeradas consecutivamente com números arábicos, com as **aclarações** corres-

pondentes. Os avisos para esclarecimentos de rodapé deverão ser realizados empregando números arábicos entre parênteses e super-índice. Somente as bordas externas da primeira e última linhas e a separação entre os títulos das colunas e os dados deverão ser marcados com linha contínua. Não marcar as bordas das colunas. Assegurar-se de que cada tabela seja citada no texto.

As **figuras** deverão ser apresentadas em folhas à parte, numeradas consecutivamente com números arábicos. Os desenhos deverão estar em condições que assegurem uma adequada repetição. Os gráficos de barras, tortas ou estatísticas deverão estar no formato GIF. Os números, letras e sinais deverão ter dimensões adequadas para serem legíveis quando forem impressas. As referências dos símbolos utilizados nas figuras deverão ser incluídas no texto da legenda.

As **fotografias** deverão ser feitas em branco e preto, com contraste, em papel brilhante e com qualidade suficiente (mínimo 300 dpi) para assegurar uma boa reprodução. Nos desenhos originais ou fotografias deverão constar, no verso, os nomes dos autores e número de ordem escritos com lápis.

As fotos para versão eletrônica deverão ser realizadas em formato JPEG ou TIFF, com alta resolução. Tanto as figuras quanto as fotografias deverão ser legíveis. O tamanho mínimo deverá ser de média carta, ou seja, 21 x 15 cm, a 300 dpi. Em todos os casos deverá estar indicado o aumento (barra o aumento).

As epígrafes das figuras deverão ser apresentadas exclusivamente em folha à parte, ordenadas e numeradas, e deverão expressar especificamente o que mostra a figura.

**Abreviaturas.** Serão utilizadas unicamente abreviaturas normalizadas. Deverão ser evitadas as abreviaturas no título e no resumo. Quando no texto se empregar pela primeira vez uma abreviatura, esta deverá ir precedida do termo completo, com exceção se tratar-se de uma unidade de medida comum.

**Unidades de medida.** As medidas de longitude, tamanho, peso e volume deverão ser expressas em unidades métricas (metro, quilograma, litro) ou seus múltiplos decimais. As temperaturas serão expressas em graus Celsius e as pressões arteriais em milímetros de mercúrio. Todos os valores de parâmetros hematológicos e bioquímicos deverão ser apresentados em unidades do sistema métrico decimal, de acordo com o Sistema Internacional

de Unidades (SI). Não obstante, os editores poderão solicitar que, antes de publicar o artigo, os autores agreguem unidades alternativas ou diferentes das do SI.

**Nomenclatura.** No caso de substâncias químicas será tomada como referência prioritária as normas da IUPAC. Os organismos serão denominados conforme as normas internacionais, indicando sem abreviaturas o gênero e a espécie em itálico.

**Discussão.** Terá ênfase sobre os aspectos mais importantes e inovadores do estudo, e serão interpretados dados experimentais em relação com o que já foi publicado. Serão indicadas as conclusões, evitando reiterar dados e conceitos já citados em seções anteriores.

**Agradecimentos.** Deverão ser apresentados em letra Arial, tamanho 10 e em um parágrafo.

**Bibliografia.** As citações bibliográficas deverão estar indicadas no texto por meio do sobrenome

de/os autor/es (até dois autores) e o ano de publicação, tudo entre parênteses, separados por ponto-e-vírgula, e no caso de mais de uma citação, deve-se começar pela mais antiga à mais atual. No caso de mais de dois autores, serão indicados o sobrenome do primeiro autor seguido de *et al.* e o ano da publicação.

#### Exemplos:

“A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é uma substância psicoativa mais consumida no mundo (Concon 1988; Lewin 1998; Nehlig 1999)”.

“Em um consenso geral, seria desejável que a ingestão total de cafeína durante a gravidez supere 300 mg/dia (Organization of Teratology Information Specialists (OTIS) 2001; Kaiser y Allen 2002; Nawrot *et al.* 2003)”.

As referências bibliográficas completas serão incluídas ao final do trabalho, abaixo do título da Bibliografia Citada, em ordem alfabética, com o nome de todos os autores em cada caso.

#### Exemplos:

##### 1. Artigo padrão em publicação periódica

Halpern S.D., Ubel P.A., Caplan A.L. Solid-

-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002;347(4):284-287.

##### 2. Livros e monografias

Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A.. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby, 2002.

##### 3. Capítulo de livro

Meltzer P.S., Kallioniemi A., Trent J.M. Chromosome alterations in human solid tumors. En: Vogelstein B., Kinzler K.W., editores. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw- Hill; 2002. p. 93-113.

##### 4. Material eletrônico

a. Artigo em publicação periódica em internet

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [on-line]. 2002 Jun. [consulta 12 de Agosto 2002];102(6):[1 p.]. Disponível em: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htmArticle>.

b. Página de internet

Cancer-Pain.org [en línea]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [atualizado em 16 de Maio de 2002; consulta 9 de Julho de 2002]. Disponível em: <http://www.cancer-pain.org/>.

c. Parte de uma página de internet

American Medical Association [on-line]. Chicago: The Association; c1995-2002 [atualizado em 23 de Agosto de 2001; consulta 12 de Agosto de 2002]. AMA Office of Group Practice Liaison. Disponível em: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

Para a correta citação de possíveis referências bibliográficas que puderam não estar citadas neste documento, consultar o estilo proposto pelo Comitê Internacional de Diretores de Revistas Médicas em “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” disponível em: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).