

ISSN 0327-9286

*Acta*  
*Toxicológica*  
*Argentina*

Publicación oficial de la Asociación Toxicológica Argentina



**Volumen 6**  
**Nº 1**  
**Julio 1998**

## Asociación Toxicológica Argentina

### Comisión Directiva

**Presidente**

Alberto A. Gurni

**Vicepresidente**

Marta Ana Carballo

**Secretario**

Teodoro Stadler

**Tesorera**

Graciela Beatriz Bassols

**Vocales Titulares**

Patricia Quiroga

Susana García

Lucrecia Ferrari

**Vocales Suplentes**

Cristina Rubio

Héctor Mosto

Noemí Verrengia Guerrero

**Tribunal de Honor**

Norma Vallejo

Ana Fulginiti

Adriana Ferrero

**Comité Científico**

Nelson F. Albiano

Héctor M. Godoy

Otmaro E. Roses

Alfredo Salibian

Eduardo Zerba

**Organo de Fiscalización**

**Miembros Titulares**

Carlos Damin

Adriana Ridolfi

**Miembro Suplente**

María Eugenia García

### Acta Toxicológica Argentina

**Director Editor**

Otmaro Enrique Roses

**Comité de Redacción**

Clara M. López

Raúl Alzogaray

Edda C. Villaamil

Gerardo D. Castro

**Comité Editorial 1998**

Juan M. Berman

E. de Camargo Fonseca Moraes (Brasil)

José A. Castro

Antonio Colombi (Italia)

Heraldo Donnewald

Ricardo Duffard

Ana S. Fulginiti

Veniero E. Gambaro (Italia)

Carlos A. García

Juan C. García Fernández

Estela Gimenez

Héctor Godoy

Irma Rosas Pérez (México)

Carlos Reale

Félix G. Reyes (Brasil)

Alfredo Salibian

Marta Salseduc

Edward Smith (Naciones Unidas)

Roberto Tapia Zuñiga (Chile)

Enrique Tourón

Norma Vallejo

Gastón Vettorazzi (España)

Edgardo J. Wood

Eduardo N. Zerba

**INDICE**  
**(CONTENTS)**

Editorial .....	3
Studies on spectrophotometric method for carboxyhemoglobin determination <i>Estudio de un método espectrofotométrico para determinación de carboxihemoglobina</i> Gabriel da Costa Malheiros A.C.C., Pereira Bastos de Siqueira M.E., Alvarez-Leite E.M. ....	4
La formación en toxicología de los recursos humanos de la atención primaria de salud. Estado actual y perspectivas en Cuba. Centro Nacional de Toxicología. <i>The formation in toxicology of human resources on health primary care current state and prospects in Cuba.</i> Martínez Cabrera, J., Pomier Suárez, O. ....	8
Estudio de la genotoxicidad de los compuestos del polietilenglicol tereftalato (PET): Dimetiltereftalato (DMT) y Acido tereftálico (TPA). <i>Genotoxicity test on the compounds of polyethylene glycol terephthalate (PET): Dimethylterephthalate (DMT) and Terephthalic acid (TPA).</i> Lerda, D. ....	11
Criterio de Salud Ambiental (OMS) N° 182 Talio <i>Environmental Health Criteria (WHO) N° 182 Thallium</i> .....	14
Criterio de Salud Ambiental (OMS) N° 175 Rodenticidas anticoagulantes <i>Environmental Health Criteria (WHO) N° 175 Anticoagulant rodenticides</i> .....	19
Indice de autores, Indice Temático, Agradecimientos <i>Authors index, Subject Index, Acknowledgements</i> .....	21
Instrucciones para los autores de contribuciones <i>Instructions to the contributors</i> .....	22

# EDITORIAL

## USO INDEBIDO DE DROGAS

El Uso Indebido de Drogas (UID) que incluye el Uso, Abuso y Drogadependencia, es un fenómeno social, campo significativo de la denominada Toxicología Social. Compromete potencialmente a todos los estratos de la comunidad. Responde a una policausalidad y requiere para el abordaje del mismo, en la búsqueda de soluciones, múltiples respuestas. Una de ellas es la Toxicología, ciencia en sí misma polifacética y multidisciplinaria que enmarca la Toxicología Clínica, Bioquímica, Química, Regulatoria y Forense, entre otras.

En la actualidad, la ejecución de las actividades simultáneas de varias profesiones afines o vinculantes, tiende a implementarse a partir de un tronco común, en el que las ramas estarán representadas por cada una de ellas. El tronco es el eje, en este caso de pensamiento y acción y su integración con el resto del conocimiento particular en cada ciencia motiva como emergente la llamada Interdisciplina.

En relación a la Drogadependencia es este enfoque el que posibilita una mayor comprensión del problema. Requiere para su ejercicio la permanente calibración de sus actores, la minimización de las competitividades profesionales y en consecuencia la suficiente adaptación funcional entre sus propios miembros y las Instituciones que los cobijan.

En el trabajo sobre terreno tienen estrecha relación en esta problemática la vinculación de la Toxicología Clínica con la Psiquiatría, la Psicología y las Ciencias Sociales. Es además muy frecuente que el paciente adicto reconozca en sí mismo su vulnerabilidad al padecimiento del estado de intoxicación o "sobredosis" que a la aceptación de la afectación de su esfera psíquica.

En referencia al consumo de drogas o fármacos, pueden diferenciarse en la población la existencia de dos posiciones extremas: la farmacofílica y la farmacofóbica. Las personas con tendencia farmacofílica tienden al consumo indiscriminado de drogas y/o medicamentos y en cambio, las farmacofóbicas, los rechazan. Ambos extremos son peligrosos. Los primeros tienen alto riesgo de padecer intoxicaciones y/o adicciones, mientras que los segundos no cumplen las indicaciones médicas necesarias para el tratamiento de las enfermedades. En el medio se ubica un grupo poblacional que espontáneamente hace un uso racional de los fármacos, cumpliendo las prescripciones médicas adecuadas y evitando el consumo de drogas de abuso.

En relación a estas últimas sustancias, cabe señalar, que la modalidad de consumo de las últimas décadas se diferencia claramente de las de los años anteriores en que la adicción se establecía a través de la incorporación al organismo de una sola droga, generalmente opiáceos, barbitúricos, anfetaminas, alcohol o marihuana.

En estos últimos 20 años la caracterización del consumo es el de las polidrogas, incluyendo también el alcohol. En este aspecto existe siempre una droga a la que defino como "dominante" y otras a las que denomino "asociadas". La primera es la que establece la dependencia y se transforma en el centro de la vida de la persona adicta y las segundas, una o varias, entran y salen del universo del paciente y son reemplazables.

En nuestro medio, la penetración de la cocaína en el mercado, se intensifica a partir del año 1987 en que se ubica hasta la fecha en los registros asistenciales en el primer lugar como droga dominante de consumo. Por el contrario ocupa la última posición como droga asociada.

Son también otras drogas dominantes la marihuana, las benzodiazepinas, los opiáceos. Estos últimos en franco retroceso en los últimos años. El ácido lisérgico (LSD) no se visualiza como sustancia dominante, pero sí como asociada.

Los solventes volátiles configuran un capítulo particular dentro de las drogas de abuso, ya que su uso, abuso y dependencia, comprometen etapas muy tempranas de la vida en que la marginalidad y la pobreza es un alto factor de riesgo.

Con respecto al alcohol se encuentran dos poblaciones comprometidas: la alcohólica pura sin la incorporación del consumo de drogas y la que asocia el alcohol a otras sustancias de abuso, dificultándose en estos casos la interpretación y el diagnóstico clínico en la sobredosis. Debe considerarse también una nueva modalidad de consumo instrumentada por jóvenes adolescentes en los que es sinónimo de "ganador" el mayor bebedor, desconociendo e ignorando totalmente el riesgo tóxico.

Aparecen en nuestro medio episodios de notoriedad mediática sobre consumos de otras sustancias: el éxtasis (MDMA), plantas alucinógenas (floripondio) y hongos (cucumelos) entre otros.

Habitualmente se señalan como drogas porteras o de inicio la marihuana y las benzodiazepinas. Debe agregarse a la nómina el tabaco, el alcohol, los pegamentos sin dejar de conocer que actualmente cada vez es más frecuente el inicio con la cocaína y en edades tempranas de la vida.

Nosotros, los toxicólogos debemos jerarquizar en su justa medida el conocimiento de las sustancias a fin de posibilitar la resolución adecuada de problemas. Sin embargo, no debe olvidarse que la conducta adictiva y la presión de la oferta va más allá de la sustancia misma y que la prevención debe partir desde el seno materno y de la familia toda e involucrar al conjunto de la sociedad a través de la educación y del compromiso mancomunado de mejorar las condiciones sociales que posibiliten que la esperanza y los proyectos de vida sean la fuerza de tracción de la comunidad organizada.

N.E.V.

## STUDIES ON SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR CARBOXYHEMOGLOBIN DETERMINATION

Ana Cristina C. Gabriel da Costa Malheiros\*, Maria Elisa Pereira Bastos de Siqueira\*\*, Edna Maria Alvarez-Leite\*\*\*

\* University of São Paulo - Faculty of Pharmaceutical Sciences. Av. Lineu Prestes, 580.

Cidade Universitária. CEP 05508-900. São Paulo/SP/Brasil. (part of a M.S. Thesis)

\*\*Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas. R. Gabriel Monteiro da Silva, 714.

Alfenas - 37130-000. MG. Brasil. Tel. +55 35 2991342 Fax +55 35 2991063. E-mail: marelisa@int.foa.br

\*\*\* Faculdade de Farmácia da UFMG - Av. Olegário Maciel 2360 30180-112 - Belo Horizonte. MG.Brasil

**ABSTRACT:** Gabriel da Costa Malheiros A.C.C.\*, Pereira Bastos de Siqueira M.E.\*\*, Alvarez-Leite E.M. *Studies on Spectrophotometric Method for Carboxyhemoglobin Determination. Acta Toxicológica Argentina. (1998) 6 (1): 4-7.* Carboxyhemoglobin is a biological marker that evaluates CO absorption (exposure biomarker) and reflects the intensity of the harmful effect of CO on the organism (effect biomarker). However the determination of low COHb levels, a common occurrence among occupationally exposed individuals and among smokers, by a simple, sensitive, accurate and precise method that can be routinely applied still presents difficulties. In the present study, we made an attempt to validate the Beutler and West spectrophotometric method by studying some critical analytical parameters, among them the most adequate technique for obtaining the factors for spectrophotometer calibration, the effect of lipemia and of haemoglobin content on COHb levels and interlaboratory control to evaluate the precision of the method. The validated method was then applied to the analysis of COHb in blood from non-smoking individuals belonging to a non-exposed group and to a group occupationally exposed to carbon monoxide in motor regulation. The spectrophotometric method proved to be sensitive, precise, accurate, rapid, simple and feasible for use in the biological monitoring of occupational exposure to CO.

**KEY WORDS:** Carboxyhemoglobin. Spectrophotometric. Validation.

**RESUMEN:** Gabriel da Costa Malheiros A.C.C.\*, Pereira Bastos de Siqueira M.E.\*\*, Alvarez-Leite E.M. *Estudio de un método espectrofotométrico para determinación de carboxihemoglobina. Acta Toxicológica Argentina. (1998) 6 (1): 4-7.* La carboxihemoglobina es un marcador biológico para evaluar la absorción (biomarcador de exposición) y refleja la intensidad del efecto nocivo del monóxido de carbono (CO) sobre el organismo (biomarcador de efecto). Sin embargo todavía presenta dificultades la determinación de la exposición a niveles bajos de CO, común en los individuos expuestos ocupacionalmente y en los fumadores, por un método simple, sensible, exacto y preciso que pueda ser aplicado en la rutina. En el presente estudio, fue validado el método espectrométrico de Beutler y West estudiando algunos parámetros analíticos críticos. Se estudió la técnica mas apropiada para obtener los factores para la calibración del espectrofotómetro, el efecto de la lipemia y de la hemoglobina sobre las concentraciones de COHb complementándose con un control interlaboratorio para evaluar la precisión del método. El método validado fue luego aplicado al análisis de la COHb en un grupo de individuos no expuestos, siendo todos ellos no fumadores, y a un grupo ocupacionalmente expuesto a monóxido de carbono. El método probó ser sensible, preciso, rápido, exacto, simple y factible de ser usado en la detección biológica de la exposición ocupacional al CO.

**PALABRAS CLAVES:** Carboxihemoglobina. Espectrofotometría. Validación.

### INTRODUCTION

The recognition and evaluation of the occupational risk of exposure to carbon monoxide (CO) require the adoption of measures for the protection of workers' health. Biological monitoring is particularly important in such programs by permitting the determination of the magnitude of human exposure.

Carboxyhemoglobin is a biological marker that evaluates CO absorption (exposure biomarker) and reflects the intensity of the harmful effect of CO on the organism (effect biomarker).

The availability of an appropriate analytical method for the quantitation of a given biomarker is an important condition in biological monitoring<sup>(1)</sup>. The choice of the method should be based on specificity, precision, accuracy, sensitivity, feasibility, time of execution, and cost. Carboxyhemoglobin (COHb) can be determined directly by spectrophotometric methods<sup>(2-5)</sup> or indirectly by the measurement of CO released from its molecule<sup>(6-9)</sup>. A review of the analytical methods available in the literature for COHb analysis in blood shows that chromatographic methods<sup>(6-8,10)</sup> despite their high sensitivity require a long time and are costly<sup>(11)</sup>.

Automatic spectrophotometry has been recently used at some frequency through the CO-oximeter, an apparatus that permits the rapid, simple and precise determination not only of COHb, but also of methemoglobin, oxyhemoglobin and reduced hemoglobin<sup>(12-15)</sup>. However, with a CO-oximeter it is difficult to distinguish COHb concentrations between 0 and 2.5%<sup>(14)</sup>.

Spectrophotometric methods<sup>(2,3,5,11,15,17,18)</sup> have the advantage of requiring a small sample volume, a short analysis time and no modifications of the equipment. The major disadvantage of these methods is the interference of substances with similar absorption spectra present in the sample, with consequent reduced specificity and poor accuracy especially in determinations of COHb low levels.

The various spectrophotometric methods differ in wavelength

ranges for absorbance reading, in number of hemoglobin derivatives analyzed, and mainly in the quantitative process. The quantification is based on the quotient of the absorption at given wavelengths, or on the differential absorption spectrum, or yet again on the derivative spectrum. The methods most commonly used involve the ratio of maximum and minimum absorption of carboxyhemoglobin and oxyhemoglobin or carboxyhemoglobin and reduced hemoglobin<sup>(2,18,19)</sup>.

Some investigators have also developed methods of spectrophotometric quantitation to obtain a differential spectrum<sup>(15,20)</sup>.

The determination of low COHb levels, a common occurrence among occupationally exposed individuals and among smokers, by a simple, sensitive and precise method that can be routinely applied still presents difficulties<sup>(12)</sup>. In 1984, Beutler and West<sup>(2)</sup> proposed a spectrophotometric method based on the differential absorption of COHb and reduced Hb and pointed out the need to determine correction factors for the wavelengths to be used in the apparatus to obtain more precise results.

In the present study, we made an attempt to validate the above method by studying some critical analytical parameters, as the most adequate technique for obtaining the factors for spectrophotometer calibration, the effect of lipemia and of hemoglobin content on COHb levels and interlaboratory control study to evaluate the precision and accuracy of the method. These studies were not shown in the Beutler and West published method and according to our experience they are critical in obtaining reliable results. The validated method was then applied to the analysis of COHb in blood from non-smoking individuals belonging to a non-exposed group and to a group occupationally exposed to carbon monoxide.

### MATERIALS AND METHODS

Samples: the samples used for validation of the method were obtained from non-smoking individuals who were not

occupationally exposed to CO. The samples were collected into a Vacutainer<sup>®</sup> tube containing sodium heparin and stored at 4 to 8°C for a maximum of five days. The control group consisted of 35 non-smoking individuals of different age (16 to 60 years) who were not exposed to CO, occupationally or in special environmental conditions. The exposed group consisted of 30 workers aged 18 to 57 years who were occupationally exposed to CO in the regulation of internal combustion motors in an automobile plant.

**Apparatus.** A Varian<sup>®</sup> DMS-80 single beam spectrophotometer was used in COHb absorbance measures after testing for wavelength accuracy (isosbestic point) and photometric accuracy. The CO and O<sub>2</sub> used for blood saturation came from gas cylinders of ultrapure and medicinal degree respectively.

**Methods.** The COHb determination<sup>(2)</sup> was made according to the following technique: 12.0 mL hemolyzing solution (phosphate buffer pH 6.85/water 1:10) is added to 100 µL blood, homogenized and left to stand for 10 min; 100 µL of this solution are pipetted into a test tube containing 2.3 mL reducing solution (25 mg of sodium dithionite in 20 mL of phosphate buffer pH 6.85 prepared immediately before use), homogenized and left to stand for 10 min. Absorbance at 420 and 432 nm is read using the reducing solution as reference. Carboxyhemoglobin concentration was obtained by an equation that considered the AR - the ratio of the absorbance values of the solution at 420 and 432 nm - and F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> - ratios between two molar absorptivities:

$$\% \text{ COHb} = \frac{1 - (\text{AR} \cdot F_1)}{\text{AR} (F_2 - F_1) - F_3 + 1} \times 100$$

**Validation variables studied:** Some steps of the spectrophotometric method for COHb determination are critical and must be carefully standardized. Among them the factors for spectrophotometer calibration, the preparation of the 100% COHb and reduced Hb solutions, the dislocation of dissolved CO, the precision of the technique, sample stability and effect of the biological matrix.

**Factors for spectrophotometer calibration:** These factors should be specifically calculated for the apparatus used for analysis by the following technique: add 500 µL blood to 60 mL hemolyzing solution, pipette 3 mL of this solution and transfer to 16 test tubes. Bubble the first 10 tubes with CO for 3 min and the remaining 6 tubes with O<sub>2</sub> for 15 min and seal the tubes immediately after bubbling. Submit the solutions of 100% COHb and 100% O<sub>2</sub>Hb to an N<sub>2</sub> current for 2.5 min using the bubbler, and seal the tubes immediately after bubbling. Transfer exactly 1.0 mL of each solution to 25 mL volumetric flasks, complete the volume with reducing solution, seal and homogenize. Read absorbance at 420 and 432 nm immediately after dilution for the solutions containing 100% COHb and after 10 min for the solutions containing 100% reduced Hb (Hb red.). Calculate

$$F_1 = \frac{\text{Abs. Hb red. 432}}{\text{Abs. Hb red. 420}}; F_2 = \frac{\text{Abs. COHb 432}}{\text{Abs. Hb red. 420}}; F_3 = \frac{\text{Abs. COHb 420}}{\text{Abs. Hb red. 420}}$$

**Precision, quantification limit, stability.** Intra-assay precision was determined by analyzing 6 samples (9 times each) with different COHb concentrations. The interassay precision was determined by the analysis of 3 blood samples analyzed daily for 10 days and stored at 4°C. To assess separately the influence of the dilution steps on the precision of the method, 10 blood hemolysates from a smoker were prepared and the serial dilution of one of these hemolysates was repeated 14 times. The quantification limit (LQ) was determined on the basis of the coefficient of variation (CV) obtained at decreasing COHb concentrations. The stability of absorbance readings for hemoglobin pigments was tested in COHb solutions ranging from 0 to 100% maintained at room temperature in open cuvettes and absorbances were read at 10 min intervals for a

period of 90 min. In biological samples the stability was assessed by monthly analyses of two samples with initial COHb concentrations of 15.3% and 5.0% for a period of one year. The samples were stored at 4°C throughout this period.

**Influence of the Biological Matrix.** The influence of hemoglobin content of the sample on the determination of percent COHb was studied in two sample groups: blood samples with the addition or removal of variable plasma volumes so as to obtain higher and lower total hemoglobin values, respectively (Group A), and blood samples diluted with different proportions of hemolyzing solution, also resulting in different Hb contents (Group B). The role of lipemic plasma in the determination of COHb concentrations was studied in samples obtained under fasting conditions. After determination of COHb concentration, the samples were supplemented with 100 and 200 µL plasma collected from the same individual after a meal and COHb concentrations were again determined. Total lipid concentration was determined in all samples by the method of Frings et al.<sup>(22)</sup>

Interlaboratory collaborative study of COHb determination was conducted through the United Kingdom National External Quality Assessment (UKNEQAS, UK).

## RESULTS

The calibration factors F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> calculated from the mean absorbance values of 100% COHb and reduced HB solutions were 1.3235, 0.4741 and 1.8923, respectively (results from 5 experiments).

Table 1: Intra-series coefficient of variation for different carboxyhemoglobin (COHb) concentrations

sample	n	% COHb		SD	CV (%)
		mean	(range)		
1	10	7,42	(7,21 a 7,59)	0,10	1,48
2	10	4,98	(4,78 a 5,09)	0,09	1,83
3	10	1,01	(0,96 a 1,08)	0,06	6,19
4	8	0,53	(0,40 a 0,59)	0,06	11,86
5	8	0,15	(0,06 a 0,28)	0,07	46,67
6	8	0,01	(0,09 a 0,07)	0,07	700,00

Table 1 shows the results of the intra-assay precision. It can be seen that the CV increased with decreasing COHb concentration. When the intra-assay CVs were analyzed for the concentrations tested, a mean 0.50% COHb was defined as the quantification limit of the method. The CVs obtained in the interassay test were 12.6%, 8% and 2.6%, respectively, for samples containing 0.86%, 1.73% and 4.54% COHb.

The study of chromogen (COHb) stability in the solution demonstrated that the absorbance readings can be taken up to 1 h after preparation when the solutions are left at room temperature. COHb was stable in blood samples for a period of up to 3 months at 4°C (F test, p ≤ 0.01).

Table 2. Carboxyhemoglobin (COHb) and total lipid concentrations in blood samples obtained under fasting conditions and supplemented with 100 µL (b) and 200 µL (c) of lipemic plasma from the same individual, collected after a meal.

samples	Total lipids (mg%)	COHb (%)
a	507	4,67
1 b	1352	4,70
c	2197	4,88
a	507	3,83
2 b	1287	3,83
c	2071	4,03
a	523	3,17
3 b	1338	3,25
c	2153	3,44

Hemoglobin values detected in Group A samples ranged from 22.7 to 2.8 g% and the COHb concentration was 1.12 to 1.06%, with a mean value of 1.24% and a CV of 5.12%. In Group B, Hb values were 25.7 to 10.0 g% and COHb concentrations were 10.6 to 9.6%, with a mean value of 9.9% and a CV of 3.66%.

Table 2 shows the results obtained in the study of the effect of lipemia in COHb determination in the samples.

group	n	age mean $\pm$ SD	% COHb mean $\pm$ SD
control	35	34 $\pm$ 12	0,91 $\pm$ 0,51
exposed	30	32 $\pm$ 10	4,72 $\pm$ 2,38

Table 3 shows the mean values and standard deviation of COHb values detected in blood samples from individuals not occupationally exposed to CO (control group) and from individuals occupationally exposed to CO (exposed group), using the validated method.

The accuracy of the method could be confirmed when it was applied to samples received from an international quality control program (UKNQAS). The COHb levels in these samples ranged from 1.6 to 49.5% and all results obtained in our laboratory were close to the concentrations spiked.

## DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The method of Beutler and West<sup>(2)</sup> selected in the present study involves a simple analytical sequence that may be understood as two subsequent dilutions. A vacuum collection tube containing sodium heparin as an anticoagulant was utilized both to obtain and to store the samples, as recommended by most investigators<sup>(2,3,5,7,9,11,15,17,19,21,22,23,24)</sup>.

The disodium salt of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA-Na<sub>2</sub>) has also been recommended as an anticoagulant<sup>(25-27)</sup>. The sample must be refrigerated at 4 to 8°C.

In the optimization of the method, changes were introduced in the determination of factors for spectrophotometer calibration which permitted obtaining satisfactory results. In preparing solutions containing 100% COHb and 100% reduced Hb we used the technique of gas bubbling instead the tonometer in order to obtain a method that would fit the conditions of most laboratory and because of the difficulty in measuring gas volumes.

The blood sample used in the preparation of the two saturated solutions should be selected according to certain criteria, such as origin from a non-smoking individual, a fact that will facilitate the preparation of a 100% O<sub>2</sub>Hb solution, and presenting methemoglobin levels of 1% or less and no other Hb derivatives (we used the Hegesh et al.<sup>(28)</sup> method for MeHb analysis) whose presence would prevent COHb formation<sup>(10,11)</sup>. Beutler and West<sup>(2)</sup> recommend 30 min of CO bubbling in the preparation of 100% COHb, without mentioning the origin of the gas, and 2 h of air bubbling to obtain the 100% O<sub>2</sub>Hb solution, using 2.0 mL of hemolysate in 25.0 mL volumetric flasks. Changing the technique by bubbling at higher volumes in a test tube permitted the saturation in a minor time and better precision in preparing the solutions<sup>(29)</sup>.

The precision of the method varies as a function of concentration, with coefficients of variation (CV) inversely proportional to the COHb concentrations. The mean CV value was about 10%, which is acceptable and enable us to establish the quantification limit of the method at 0.5% COHb.

According to the UKNEQAS data, among the various laboratories using spectrophotometric methods, those who utilized techniques based on reduction with dithionite had the smallest number of rejection of their results, and the mean difference (%) between detected and spiked values was < 1.5%.

When using spectrophotometric methods is it important to investigate the stability of the chromogen in the final solution for reading to avoid impairing the accuracy and precision.

The present study showed that the solutions are stable for a period of one hour after preparation, in agreement with data reported by Beutler and West<sup>(2)</sup>. The possibility of a CO loss during the period of sample storage after collection motivated the study of COHb stability in the sample, in order to determine the need for prompt execution of the analytical method and, therefore, its practical viability.

The influence of Hb content was studied by the determination of COHb in aliquots of one sample with variation of hemoglobinemia over a range that extrapolates values considered to be of reference (12 to 17%), presented CV of 5.12% for a mean COHb value of 1.14%, which was similar to that encountered for this level in the study of the precision of the method (Table 1). The second assay, carried out in order to extend the method to higher COHb concentrations (1.31 to 10.6%), shows CV close to 1%. Thus, comparison of the COHb values obtained for the samples with the Hb concentration variable allow us to conclude that hemoglobin content did not interfere with quantification of the bioindicator in either study.

The study of the possible influence of sample opalescence on absorbance reading in samples collected from the same individual, a smoker, under fasting conditions and after a meal shows that, although the lipid level in the samples of the postprandial period was double, no significant effect on COHb concentration was observed.

The validated analytical method was applied to blood samples from control individuals. In this group, some results (16%) were below the quantification limit of the method (0.5% COHb). The mean value detected for the control group was within the range considered to be of reference for COHb, 0.5 to 1.5% according to Sulotto et al.<sup>(30)</sup> or 1.0% according to Brazilian law<sup>(31)</sup>. Samples were preferentially collected from the exposed group at the end of a work day, as recommended by the American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)<sup>(32)</sup>. Samples from 30 workers assigned to motor regulation in the automobile industry show interindividual differences in the COHb percentages which may be attributed to the different personal and working habits of each individual, among other causes, as well as to the effective use of protective gas masks or lack thereof. 50% of the workers presented COHb levels exceeding the maximum biological index permitted in the country, which is 3.5%<sup>(31)</sup>, a value identical to the BEI of ACGIH<sup>(32)</sup>.

Analysis of the present results permitted us to conclude that:

- 1) the spectrophotometric method optimized for the determination of COHb proved to be sensitive, precise, accurate, rapid, simple and feasible for use in the biological monitoring of occupational of CO exposure;
- 2) The precision of the method depends on the concentration and the CVs obtained allow us to establish its quantification limit at 0.50% COHb;
- 3) The determination of specific calibrations factors for the spectrophotometer is necessary to obtain reliable results;
- 4) The removal of CO dissolved in the 100% COHb solution by nitrogen is imperative for the preparation of different COHb concentrations.
- 5) COHb is stable in blood samples stored at 4°C for up to 6 months.
- 6) The hemoglobin content and opalescence (lipemia) of the blood sample do not interfere with the spectrophotometric quantification of COHb.
- 7) The individuals from the exposed group presented COHb levels indicating marked exposure to CO at the work place (56.7% of non-smoking individuals with COHb levels higher than 3.5%), with a significant difference when compared to the control group ( $\alpha = 0.05$ , Kolmogorov-Smirnov test). We studied this analytical method to determine its applicability to the biological monitoring of occupational exposure to CO; however, its characteristics certainly permit its use in the diagnosis of acute intoxication, fatal or not, in

comparative studies of maternal and fetal COHb, in the assessment of the use of tobacco and in the biomonitoring of exposure to dichloromethane, among others.

## REFERENCES

- Lauwerys R.; Bernard A. (1985) La surveillance biologique de l'exposition aux toxiques industriels: position actuelle et perspectives de développement. *Scand. J. Work Environ. Health* 11: 155-64.
- Beutler E.; West C. (1984) Simplified determination of carboxyhemoglobin. *Clin. Chem.* 30: 871-4.
- Dennis R.C.; Valeri C.R. (1980) Measuring percent oxygen saturation of hemoglobin, percent carboxyhemoglobin and methemoglobin, and concentration of total hemoglobin and oxygen in blood of man, dog, and baboon. *Clin. Chem.* 26: 1304-8.
- Perrigo B.J.; Joynt B.P. (1988) Evaluation of current derivative spectrophotometric methodology for the determination of percent carboxyhemoglobin saturation in postmortem blood samples. *J. Anal. Toxicol.* 13: 37-46.
- Rodney F.L.; Hill T.A.; Pitts L.L.; Robertson R.F. (1979) Spectrophotometric measurement of carboxyhemoglobin and methemoglobin in blood. *Clin. Chem.* 25: 1388-9.
- Coburn R.F.; Danielson G.K.; Blakemore W.S.; Forster R.E. (1964) Carbon monoxide in blood: analytical method and sources of error. *J. Appl. Physiol.* 19: 510-15.
- Collison H.A.; Rodney F.L.; O'Neal J. (1968) Determination of carbon monoxide in blood by gas chromatography. *Clin. Chem.* 14: 162-171.
- Dahms E.T.; Horvath S.M. (1974) Rapid, accurate technique for determination of carbon monoxide in blood. *Clin. Chem.* 20: 533-37.
- Husgafvel-Pursiainen K.; Sorsa M.; Engstrom K.; Winisto P. (1987) Passive smoking at work: biochemical and biological measures of exposure to environmental tobacco smoke. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 59: 337-45.
- Hessel D.W.; Modglin F.R. (1967) The determination of carbon monoxide in blood by gas-solid chromatography. *J. Forensic. Sci.* 12: 123-30.
- Fogh-Andersen N.; Eriksen P.S.; Grinsted J.; Siggaard-Andersen O. (1988) Gas-chromatographic measurement of carboxyhemoglobin in blood from mothers and newborns. *Clin. Chem.* 34: 24-26.
- Kale S.N.; Pentiu F.; Christiani D.C. (1994) Pseudoelevation of carboxyhemoglobin levels in firefighters, *JOM* 36: 752-56.
- Langston P.G.; Jarvis D.A.; Lewis G.; Osborne G.A.; Russel W.J. (1993) The determination of absorption coefficient for measurements of carboxy-hemoglobin, oxy-hemoglobin, reduced hemoglobin and met-hemoglobin in sheep using the IL 482 CO-Oximeter. *J. Anal. Toxicol.* 17: 278-83.
- Mahoney J.J.; Vieman H.J.; Stevenson D.K.; Van Kessel A.L. (1993) Measurement of carboxyhemoglobin and total hemoglobin by five specialized spectrophotometric (CO-Oximeters) in comparison with reference method. *Chem. Clin.* 39: 1693-1700.
- Sundstrom G. (1972) Blood carboxyhemoglobin: results with conventional standards compared with those with a submicroliter reference of gaseous CO. *Clin. Chem.* 18: 188-92.
- Vieman H.J.; Stevenson D.K. (1994) Carboxyhemoglobin determined in neonatal blood with a CO-Oximeter unaffected by fetal oxyhemoglobin. *Clin. Chem.* 40: 1522-27.
- Katsumata Y.; Aoki M.; Sato K.; Suzuhi Oya M.; Yada S. (1982) A simple spectrophotometry for determination of carboxihemoglobin in blood. *J. Forensic. Sci.* 27: 928-34.
- Klendshoj N.C.; Feldstein M.; Sprague A.L.; (1950) The spectrophotometric determination of carbon monoxide. *J. Biol. Chem.* 183: 297-303.
- Dijkhuizen P.; Buursma A.; Gerding A.M.; Van Kampen E.J.; Zijlstra W.G. (1977) Carboxyhaemoglobin spectrophotometric determination tested and calibrated using a new reference method for measuring carbon monoxide in blood. *Clin. Chim. Acta* 80: 95-104.
- Fenton J. (1972) Artifact due to traces of detergent on laboratory glassware affecting carboxyhaemoglobin measurement. *Clin. Chim. Acta* 39: 266-8.
- Frings C.S.; Fendley T.W.; Dunn R.T.; Queen C.A. (1972) Improved determination of total serum lipids by the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Clin. Chem.* 18: 673-4.
- Sigaard-Andersen O.; Petersen B.N.; Rem J.; (1972) Hemoglobin pigments. Spectrophotometric determination of oxi, carboxy and sulphemoglobin in capillary blood. *Clin. Chim. Acta* 42: 85-100.
- Chia K.S.; Jeyaratnam J.; Chan T.B.; Lim T.K. (1990) Airway responsiveness of firefighters after smoke exposure. *Br. J. Ind. Med.* 47: 524-7.
- Zwart A.; van Kampen E.J.; Zijlstra W.G. (1986) Results of routine determination of clinically significant hemoglobin derivatives by multicomponent analysis. *Clin. Chem.* 32: 927-8.
- Chace D.H.; Goldbaum L.R.; Lappas N.T.; (1986) Factors affecting the loss of carbon monoxide from stored blood samples. *J. Anal. Toxicol.* 10: 181-9.
- Sanderson J.H.; Sotheran M.F.; Stattersfield J.P.; (1978) A new method of carboxyhemoglobin determination. *Br. J. Ind. Med.* 35: 67-72.
- Parks J.; Worth H.G.J. (1985) Carboxyhemoglobin determination by second-derivative spectroscopy. *Clin. Chem.*, 31: 279-81.
- Hegesh E.; Gruener N.; Cohen S.; Bochkovsky R.; Shuval H.I. (1970) A sensitive micromethod for the determination of methemoglobin in blood. *Clin. Chim. Acta* 30: 679-82.
- Malheiros A.C.C.G.C.; Siqueira M.E.P.S.; (1991) Determinação espectrofotométrica de carboxiemoglobina em indivíduos expostos ocupacionalmente ao monóxido de carbono [MS thesis]. São Paulo, Brasil: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. 1991, 104pp.
- Sulotto S.; Romano C.; Insana A.; Carrubba M.; Cerutti A.; (1994) Valori normali di carbossiemoglobinemia ed di metaemoglobinemia in un campione di militari di leva. *Med. Lav.* 85: 289-98.
- Brasil. Ministério do Trabalho. Seção de Relação de Trabalho, Portaria nº 24 de 29 dez.1994. Diário Oficial, 30 dez. 1994. Seção 1:21278-9.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists (1996/7); Thresold Limit Values and biological exposure indices. Washington DC, 58 pp.

# LA FORMACION EN TOXICOLOGIA DE LOS RECURSOS HUMANOS DE LA ATENCION PRIMARIA DE SALUD. ESTADO ACTUAL Y PERSPECTIVAS EN CUBA. CENTRO NACIONAL DE TOXICOLOGÍA

Jesús Martínez Cabrera<sup>(1)</sup>, Olga Pomier Suárez<sup>(2)</sup>,

<sup>(1)</sup> Centro Nacional de Toxicología, Hospital "Dr. Carlos J. Finlay",  
Calle 114 y 31 Marianao. Apdo. 14020, Ciudad de La Habana 10500, Cuba., <sup>(2)</sup> Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri"

**RESUMEN:** Martínez Cabrera, J., Pomier Suárez, O. **La formación en toxicología de los recursos humanos de la atención primaria de salud de salud. Estado actual y perspectivas en Cuba. Centro Nacional de Toxicología. Acta Toxicológica Argentina. (1998) 6 (1): 8-10.** Impetuosa resulta la integración de la toxicología a la atención primaria de salud para alcanzar la meta de "salud para todos en el año 2000". El artículo presenta el modelo cubano de atención primaria conocido como "plan del médico de la familia". Aborda las particularidades de la formación del médico general integral como recurso humano fundamental de este plan; resalta lo inadecuada que resulta su formación actual en toxicología, especialmente para enfrentar las labores de promoción de salud y prevención de los principales riesgos tóxicos. Se exponen los conocimientos que deben dominar los médicos de la atención primaria sobre toxicología. Se analiza el papel de la investigación científica como elemento integrador entre la docencia y la asistencia médica; enumerando los principales obstáculos que presenta la investigación en la atención primaria y propone algunos temas de investigación en toxicología susceptibles de realizarse en la atención primaria.

**PALABRAS CLAVES:** atención primaria, docencia, recursos humanos, toxicología.

**ABSTRACT:** Martínez Cabrera, J., Pomier Suárez, O. **The formation in toxicology of human resources on health primary care current state and prospects in Cuba. National Center of Toxicology. Acta Toxicológica Argentina. (1998) 6 (1): 8-10.** It is extremely important the integration of toxicology in the health primary care so as to reach the goal of "Health For All in the years 2000". This paper presents the Cuban's model of primary health care known as "The Family's Physician". It deals with the particularities of formatting the Integral General Physician, as a fundamental human resources of this program. It points out the insufficiency of the present formation in toxicology specialty at the time of conducting activities to promote health and prevent the main toxic risks. The knowledge to be mastered by the doctors involved in primary care regarding toxicology are explained. The role of scientific research is analyzed as an integrating element between teaching programs and medical assistance. The principals obstacles of research in primary care are discussed. It proposes some topics of investigation on Toxicology with possibilities of conduction in primary health care programs.

**KEY WORDS:** primary health care, teaching, scientific research, human resources, toxicology.

## INTRODUCCION

Durante la última década, el estado de salud de la población cubana ha experimentado importantes cambios tanto en relación con la mortalidad, la morbilidad y las discapacidades; mostrando un patrón semejante al de países desarrollados<sup>(1)</sup>.

Con la creación en 1984 del modelo de atención primaria del "médico de la familia", Cuba ha ratificado en la práctica su decisión de centrar el sistema sanitario en la atención primaria, como estrategia global para alcanzar la meta, propuesta por la OMS, de "salud para todos en el año 2000".

Lo novedoso del modelo de atención del médico de la familia consiste en la presencia de profesionales de alta calificación científica en distintos puestos de trabajo: la comunidad, centros laborales, escuelas y círculos infantiles; se convierten así en los "guardianes de la salud" dentro del contexto social que les corresponde, al aplicar de forma integral acciones de promoción, prevención, diagnóstico, tratamiento y rehabilitación.

Superado un primer estadio, -dominado por las enfermedades infecciosas ligadas a la pobreza, la malnutrición y la precaria higiene personal y ambiental-, el Sistema Nacional de Salud se enfrasca ahora en la lucha contra las enfermedades crónicas no transmisibles (segundo estadio), y los problemas de salud derivados de la exposición ambiental y laboral de un creciente número de productos químicos y otras sustancias tóxicas, la accidentalidad, el abuso del alcohol y el uso indebido de drogas (tercer estadio)<sup>(2)</sup>.

Como se aprecia, elevada ha de ser la contribución de la toxicología para alcanzar la meta propuesta por la OMS, principalmente en la promoción de salud y en la prevención de los principales factores de riesgo<sup>(3)</sup>.

La toxicología en Cuba es una ciencia en formación. Con la fundación del Centro Nacional de Toxicología (GENATOX) en 1986, comienza el desarrollo integral de la especialidad en sus diferentes vertientes. Las acciones de toxicovigilancia emprendidas en el último lustro avizoran que se abre paso la Toxi-

cológia Preventiva cuyo eslabón fundamental será el médico de la familia.

Sin dudas se requiere la formación de recursos humanos en toxicología y la actualización de aquellos que realizan actividades en este campo, pues hasta el momento el plan de estudios de pregrado en Ciencias Médicas contempla sólo temas sobre las intoxicaciones más frecuentes que requieren asistencia urgente, otros temas aparecen dispersos en las asignaturas de Dermatología y Farmacología.

## Formación del médico de la familia

A pesar de los cambios operados en los últimos años en la docencia médica de pregrado, con la inclusión de asignaturas como "Sociedad y Salud" y la mejoría de los programas de otras como "Teoría de la Administración de Salud" e "Higiene y Epidemiología"; los egresados de las Facultades de Medicina tienen una formación bióloga, inadecuada para enfrentar a plenitud las tareas propias del trabajo en la comunidad<sup>(4)</sup>.

El médico recién graduado, después de un período de familiarización, ingresa en la residencia de Medicina General Integral (MGI) durante 3 años, de la cual termina como especialista de Primer Grado, teniendo la posibilidad de permanecer dentro de la atención primaria, hacer una segunda especialidad, asumir cargos administrativos, y desarrollarse como docente o investigador<sup>(5)</sup>.

El programa de especialización mantiene el enfoque integral de la medicina como centro de la formación, y prepara al futuro especialista como "agente de cambio" en su entorno, con un enfoque multidisciplinario. El programa está compuesto de módulos cuyos objetivos se formulan en términos de "modos de actuación".

El contenido de los módulos se complementa con actividades, rotaciones y estancias en hospitales y en diferentes puestos de trabajo. La formación se desarrolla a la par de las actividades asistenciales, investigativas y administrativas por medio de la tutela de docentes (Internistas, Pediatras, Obstetras, Psicólogos)<sup>(5)</sup>.

Dado lo abarcador del programa de especialización se corre el riesgo que la introducción de nuevos temas de estudio lo hagan muy complejo y casi insalvable. El médico de la familia no tiene la posibilidad (ni debe aspirar a ello) de conocer toda la medicina, debe conformarse con conocer los preceptos fundamentales de las especialidades de que se nutre y además debe actualizar de forma permanente sus conocimientos.

Ante este panorama nos planteamos las siguientes interrogantes:

¿Qué conocimientos de toxicología debe tener el especialista en MGI? ¿Qué nivel de profundidad deben tener estos conocimientos? ¿Cuál es la forma adecuada de capacitar a los especialistas en MGI en toxicología? ¿Cómo integrar la investigación en toxicología a la atención primaria?, y por último, ¿Qué tipo de educación de postgrado en toxicología debe brindarse a los especialistas en MGI?

¿Que deben saber de toxicología los médicos de la familia?

El plan de estudio actual de especialización en MGI incluye temas de toxicología en diferentes módulos, en especial los referidos a accidentes en el hogar, intoxicaciones agudas y enfermedades profesionales; pero expuestos con un enfoque biológico que no resalta las acciones preventivas; muchas veces solo se limita a dictar pautas de tratamiento ante cada caso específico.

Para el dominio de los contenidos de toxicología por parte de los residentes se deben disminuir las conferencias y actividades docentes de carácter pasivo y establecer en mayor medida métodos activos de enseñanza, especialmente el método de solución de problemas; los contenidos no deben variar en dependencia de la ubicación laboral del residente y las actividades prácticas deben tener un peso elevado en la evaluación de los conocimientos.

Exponemos de forma resumida los contenidos de toxicología que a nuestro criterio, deben incluirse en los diferentes módulos del programa de especialización en MGI<sup>(6)</sup>:

- Toxicología General: Estado actual de las intoxicaciones en Cuba y el Mundo, principales síndromes tóxicos, riesgo oncogénico y teratogénico, toxicocinética y mecanismos de acción tóxica, medidas inmediatas en el tratamiento de las intoxicaciones y el uso de antidotos.
- Toxicología Ambiental: Riesgo de contaminación del ambiente, efectos que tiene para el hombre la contaminación del ambiente.
- Toxicología de los Medicamentos: Intoxicación por psicofármacos, farmacodependencia, reacciones adversas a medicamentos y farmacovigilancia.
- Toxicología Social: Riesgo y las enfermedades asociadas al abuso del alcohol, problemas asociados al uso indebido de drogas, enfermedades asociadas al hábito de fumar.
- Toxicología de los Alimentos: Enfermedades por contaminación y adulteración de alimentos.
- Toxicología Ocupacional: Riesgo laboral y enfermedades ocupacionales, implicaciones sociales y legales de la enfermedad laboral.

#### Investigación científica, atención primaria y toxicología

La investigación científica es un poderoso instrumento, no sólo para producir conocimientos, sino también para cuestionar lo que damos por conocido y sobre todo para transformar la realidad en que estamos inmersos; juega un papel decisivo en integrar y transformar cualitativamente la docencia y la asistencia médica.

Con la especialización en MGI la investigación en la atención primaria se hace una necesidad, no sólo para la realización

del trabajo de terminación de residencia, sino también responde a las exigencias del desarrollo de la atención primaria y al interés científico de estos médicos.

Numerosos son los problemas que enfrenta la investigación en la atención primaria, entre ellos, la hegemonía clínico hospitalaria con la consiguiente subestimación conceptual de las investigaciones en esta área, a lo que se une un escaso entrenamiento en los métodos de investigación por parte de los médicos de la atención primaria<sup>(7)</sup>.

La investigación en toxicología en la atención primaria tropieza con estos y otros problemas derivados de la escasez de recursos materiales y humanos con que cuenta la especialidad y la poca motivación para la investigación en esta esfera por parte del personal de la atención primaria.

Resulta necesario un enfoque estratégico que permita llevar a cabo un plan integral de investigación en toxicología a nivel comunitario.

La vinculación de la atención primaria de salud al CENATOX y a otros Centros Universitarios, la realización investigaciones operativas de bajo costo y encaminadas a la búsqueda de soluciones a problemas cotidianos e insertada al trabajo docente del residente en MGI, serían las principales líneas de acción.

Algunos temas de investigación en toxicología susceptibles de realizarse en la atención primaria serían los relacionados con morbilidad por intoxicaciones en diferentes grupos de edades y de riesgo, factores de riesgo tóxico en la población y su relación con las diferentes enfermedades crónicas no transmisibles, servicios que prestan los centros de información toxicológica, condiciones bioclimáticas, geográficas, agentes físicos y su interrelación con agentes químicos y como influyen en el patrón de salud-enfermedad de una población, conocimientos acerca de los medicamentos, su uso y reacciones adversas, accidentes químicos en el hogar y su prevención, investigaciones epidemiológicas sobre riesgo oncogénico y teratogénico, contaminación y adulteración de alimentos y su efecto sobre la salud, repercusión social de las enfermedades ocupacionales en especial por el uso de agroquímicos.

#### Educación de postgrado en toxicología para el especialista en MGI

La educación de postgrado para el especialista en MGI está dirigida a elevar sus conocimientos generales y especializados mediante cursos, entrenamientos y estudios de postgrados que le permitan mejorar la calidad de la atención médica, satisfacer las necesidades de ampliación de los conocimientos y posibilitarles su desarrollo profesional en dependencia de su interés personal y del puesto de trabajo que desempeñe o desempeñara<sup>(8)</sup>.

En particular, la superación profesional de postgrado en toxicología se desarrolla en el CENATOX desde 1991. El estudio de postgrado (ahora con carácter de maestría) de 1 año de duración consta de diferentes módulos (toxicología fundamental, toxicovigilancia, toxicología clínica, desastres químicos) todos con énfasis en las labores de prevención del riesgo de las intoxicaciones y el diagnóstico y tratamiento de las mismas. Cada curso admite entre 3 y 6 especialistas en MGI que una vez terminada la maestría pasan a laborar en las diferentes provincias del país con el propósito de extender el trabajo asistencial, docente e investigativo de toxicología en la atención primaria de salud.

Al incorporarse a la maestría los especialistas en MGI enfrentan una serie de dificultades, entre ellas; el poco dominio del idioma Inglés, idioma en que se encuentra escrita la mayor parte de los textos y la bibliografía auxiliar; ausencia, en muchos de ellos, de los conocimientos elementales de computación, lo que los limita en el acceso a la información actualizada y en la elaboración de proyectos de investigación y escasa preparación

para el planeamiento y ejecución del trabajo de terminación de la maestría.

Para obtener entonces, los créditos necesarios se requiere de un esfuerzo extra por parte del MGI y de los docentes encargados de su preparación.

### CONCLUSIONES

1. La toxicología juega un importante papel en el objetivo de alcanzar la meta de la OMS, de "salud para todos en el año 2000" principalmente en la promoción y en la prevención de salud".
2. La formación actual de pregrado y la de especialización del MGI en toxicología es inadecuada, por insuficiente y obsoleta.
3. Resulta necesario un impulso a la investigación en toxicología en la atención primaria de salud con énfasis en la toxicovigilancia.
4. La maestría en toxicología clínica constituye el marco adecuado para la formación de recursos humanos en toxicología que sirvan más tarde como difusores de las actividades asistenciales, docentes e investigativas de la especialidad en la atención primaria.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Cuba, Ministerio de Salud Pública (1994) Informe Anual 1993. Ciudad de La Habana, Cuba: 1-2
2. Organización Panamericana de la Salud (1990) Las condiciones de salud en Las Americas. Publicación científica No. 524: 39-58
3. de Fernícola NAGG (1985) Contribución de la Toxicología para alcanzar la meta de salud para todos en el año 2 000. Bol Of Sanit Pan 99: (6) 586-593
4. Apolinaire JJ (1991) La formación del médico de la familia: Un reto para el trabajador docente de salud pública. Rev Finlay 5(1): 3-12
5. Jardines JB, Padrón L, Rodríguez J, Rivero B, Rigol O, Sarracino LT, Ruiz G (1991) La Especialidad de Medicina General Integral. Rev Cub Med Gen Int 7(2): 47-50
6. Martínez J, Pomier O, Pérez R (1995) La toxicología en la atención primaria de salud. Rev Cub Med Gen Int 11(3): 134-141
7. Organización Panamericana de la Salud (1990) Desarrollo y fortalecimiento de los Sistemas Locales de Salud. Los medicamentos esenciales. 53: 7-8
8. Vila E, Díaz M (1989) La superación de postgrado en el Sistema de Salud. Educ Med Sup 3(1-2): 132-134

# ESTUDIO DE LA GENOTOXICIDAD DE LOS COMPUESTOS DEL POLIETILENGLICOL TEREFALATO (PET): DIMETILTEREFALATO (DMT) Y ACIDO TEREFALICO (TPA).

Daniel Lerda. Cátedra de Toxicología Ambiental. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Católica de Córdoba. Camino a Alta Gracia Km 7.5. 5000 Córdoba. Argentina. Tel./Fax: 54 51 940696.

**RESUMEN:** Lerda, D. Estudio de la genotoxicidad de los compuestos del polietilenglicol tereftalato (PET): Dimetiltereftalato (DMT) y Acido tereftálico (TPA). *Acta Toxicológica Argentina. (1998) 6 (1): 11-13.* Se estudió la acción genotóxica y mutagénica del dimetiltereftalato (DMT) y el ácido tereftálico (TPA), los principales componentes del polietilenglicol (PET). Fueron evaluados in vitro con el test de Ames, prueba de la síntesis de ADN no programada y micronúcleos. Los datos obtenidos no revelan potencial mutagénico para el DMT y TPA en las condiciones del protocolo experimental utilizado.

**PALABRAS CLAVES:** polietilenglicol tereftalato; dimetiltereftalato; ácido tereftálico; genotoxicidad; mutagenicidad.

**ABSTRACT:** Lerda, D. *Genotoxicity test on the compounds of polyethylene glycol terephthalate (PET): Dimethylterephthalate (DMT) and Terephthalic acid (TPA).* *Acta Toxicológica Argentina. (1998) 6 (1): 11-13.* Dimethylterephthalate (DMT) and terephthalic acid (TPA), the main compounds of polyethylene glycol terephthalate (PET) were evaluated for genotoxicity and mutagenicity in the Ames test, UDS by liquid scintillation counting, and micronuclei induced in binucleate human lymphocytes. Data failed to show that DMT and TPA at experimental protocol had any genotoxic and or mutagenic effects.

**KEYWORDS:** polyethylene glycol terephthalate; dimethylterephthalate; terephthalic acid; genotoxicity; mutagenicity.

## INTRODUCCION

En el curso del último decenio se ha desarrollado considerablemente el empleo de productos químicos en una vasta gama de la actividad humana. Este hecho es importante no sólo desde el punto de vista de un enorme volumen de producción química sino también a que la gran variedad de estos productos se han introducido en todos los aspectos de la vida cotidiana (productos farmacéuticos, aditivos alimentarios, pesticidas, insecticidas, contaminantes industriales diversos en el agua y en el aire, etc.). Además, el desarrollo de la utilización pacífica de la energía nuclear, de la radiación ionizante con fines diagnósticos y terapéuticos y de la radiación ultravioleta aumentaron la exposición humana a radiaciones de distinta naturaleza física. Si bien la mutación espontánea y la selección natural constituyen los principales momentos intermedios a través de los cuales se realizan los procesos evolutivos, no es de dudar que la exposición de la población humana a un número creciente de agentes químicos de acción mutagénica deba ser mirada con preocupación. El empleo de la materia plástica en la producción de contenedores para uso alimentario ha sido en estos últimos años de relevante interés para la toxicología. El polietilenglicol tereftalato (PET), una resina patentada en Inglaterra en 1941 por la Imperial Chemical Industries (ICI), ha hecho su entrada en el mercado, sustituyendo rápidamente al PVC en la preparación de manufacturas destinadas al campo alimentario. En Argentina el PET es utilizado como contenedor de bebidas gaseosas. En Italia y en casi todos los países europeos el uso de tal contenedor es limitado a la bebida gaseosa, agua mineral, aceites y otros líquidos no alcohólicos. En el Reino Unido y en los E.U. han aprobado el uso de tales contenedores para farmacia y cosmética.

Defusco et al.<sup>(1)</sup> observaron actividad mutagénica en concentrado de agua mineral, mantenida por un mes en botella de PET expuesta a la luz en la cepa TA 98 con la prueba de Ames. Goncharova et al.<sup>(2)</sup> encontraron un efecto clastogénico débil en ratones tratados con DMT. Con respecto a la posible carcinogenicidad, el Programa Nacional de Toxicología de E.U.<sup>(3)</sup> presentó un informe en donde ratones de la cepa B6C3F1 y ratas F344 tratadas en la dieta con DMT, no mostraron efectos carcinogénicos.

En virtud de que las concentraciones ensayadas en este trabajo no fueron estudiadas previamente y como un aporte más a los datos ya existentes en la literatura mundial sobre ge-

notoxicidad, el principal objetivo de este estudio fue determinar la acción genotóxica y mutagénica de los componentes principales del PET: dimetil tereftalato (DMT) y ácido tereftálico (TPA).

## MATERIALES Y METODOS

Los componentes químicos investigados en este estudio, DMT y TPA fueron obtenidos de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

Las muestras DMT y TPA se disolvieron en una solución acuosa con 3 % de dimetilsulfóxido (DMSO) y 1 % de TWEEN 20 (Sigma Chemical, St. Louis MO, USA) para realizar las pruebas de Ames y de la Síntesis de ADN no programada. Para la prueba de Micronúcleos, las muestras DMT y TPA fueron disueltas en RPMI 1640 (Gibco Laboratories, Grand Island, NY) con 1% de DMSO.

Las concentraciones de los compuestos químicos ensayadas en este trabajo (0.5, 5, 50 y 500 ug/ml), surgen de los estudios preliminares de toxicidad realizados en cada prueba.

### Prueba de Ames

La mutagenicidad bacteriana del DMT y TPA se investigó usando las cepas TA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 98 y TA 100 de Salmonella typhimurium con o sin activación metabólica (+ S 9). Se utilizó la mezcla S-9 de hígados de ratas machos Sprague-Dawley tratadas con Aroclor 1254 de acuerdo al método de Ames et al.<sup>(4)</sup>. Fueron utilizadas tres placas por dosis por cepa y se utilizó el criterio de Ames et al.<sup>(4)</sup> para evaluar la mutagenicidad del DMT y TPA.

Una prueba preliminar de toxicidad fue realizada con la cepa TA 100 para establecer el correcto rango de concentración a emplear.

### Prueba de la síntesis de ADN no programada

Se empleó el método descrito por Bartsch et al.<sup>(5)</sup> en donde se utilizaron células humanas heteroploides HeLa. Como mutágeno de control en ausencia de activación metabólica se utilizó el etilmetansulfonato (EMS) (Fluka 73256) 100 mM y en presencia de activación metabólica se utilizó el 2-aminoantraceño (2AAC) (Sigma Chemical, St. Louis MO, USA) 100 mM. Las células se sembraron en placa para cultivos celulares de 24 pocillos de 16 mm de diámetro conteniendo cada uno un vidrio de 12 mm de diámetro. Después de una incubación de 24h a 37°C

en incubadora en atmósfera controlada (CO<sub>2</sub> al 5 %), las células se lavaron con PBS. Se procedió luego al tratamiento, exponiendo las células por 1 h a la sustancia en examen a las diversas dosis (1 ml/pocillo) en presencia de activación metabólica en la cantidad de 0.5 ml/pocillo (en la placa + S 9) y en ausencia de activación metabólica (en la placa - S 9). Al término del tratamiento las células se lavaron con PBS agregando 1 ml/pocillo de DMEM (Sigma Chemical, St. Louis MO, USA) en una mitad de los pocillos por cada tratamiento, mientras en la otra mitad se agregó DMEM más hidroxurea (HU) 75 mM. Después de 15 min. a 37°C en un pocillo se agregó metiltimidina 3 H (10 u Ci ml<sup>-1</sup>) por 4 h. La incorporación de tritio dentro de la fracción ácida-insoluble fue contada en una cámara de centelleo con tolueno-base en un "Spectrómetro tri-carb Packard". Los resultados se expresaron como el porcentaje de incorporación de TdR-3H en presencia y ausencia de hidroxurea.

Previo al examen, se realizó la prueba de citotoxicidad en presencia y ausencia de activación metabólica. La dosis máxima tolerada fue aquella cuya concentración permitía el 60 % de crecimiento celular respecto al control.

### PRUEBA DE MICRONUCLEOS

La prueba se realizó "in vitro" sobre linfocitos humanos de sangre entera periférica obtenida de 4 sujetos voluntarios sanos, de ambos sexos, de entre 20 y 30 años de edad, no fumadores, no expuestos a ningún tratamiento farmacológico o a agentes mutagénicos por lo menos desde un año antes y no expuestos a radiaciones ionizantes por lo menos desde seis meses antes, con anamnesis negativa de fragilidad cromosómica y de recientes infecciones virales.

La sangre entera (0.5 ml) obtenida de voluntarios sanos, heparinizada, se agregó a 4.5 ml de cultivo completo (RPMI 1640 con HEPES 4.10 ml, suero fetal calcico al 20 % 0.75 ml, fitohemaglutinina 0.05 ml, pen/sterp 152 U ml<sup>-1</sup>) en tubos estériles de 10 ml. Los cultivos se incubaron a 37 grados centígrados por 72 h. Como control negativo se utilizó el DMSO y como control positivo la bleomicina (50 ug ml<sup>-1</sup>, Sigma B 5507). Después de 22 h, a los cultivos se le agregaron las concentraciones a investigar de DMT y TPA. A las 44 h se le agregó 3 ug ml<sup>-1</sup> de citocalasina B (Sigma, Cat C 6762, 2 mg ml<sup>-1</sup> en DMSO) en cada cultivo como fue descrito por Obe et al.<sup>(6)</sup> para el método de células binucleadas. Las células fueron recolectadas centrifugando por 12 minutos a 1200 x g, luego fueron tratadas con KCl al 0.56 % y nuevamente se centrifugaron por 10 minutos a 1400 x g. Se fijaron con una mezcla de metanol:acético glacial (3:1), se realizaron tres lavados con el fijador y luego se colocaron las células en portaobjetos codificados y se dejaron secar a la temperatura ambiente hasta el día siguiente. Luego se procedió a la coloración con Giemsa al 4 %. Se contaron 1000 células binucleadas por portaobjetos y 2 portaobjetos por cultivo. Se realizaron para cada sustancia en examen dos cultivos repetidos en tiempos diversos. Previo al examen se realizó el ensayo de la dosis máxima, para ello se realizó el tratamiento "in vitro", tomando como dosis máxima aquella que había provocado una mortalidad celular del 30 %, utilizando el colorante vital de Nigrosina para detectar las células muertas.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para comparación entre grupos en las tres pruebas se utilizó el análisis de variancia monovalente para rango de Kruskal-Wallis<sup>(7)</sup>.

### RESULTADOS Y DISCUSION

El principal metabolito del DMT, el ácido paraftálico (pFT), de acuerdo a los datos de la literatura, no presentó actividad mutagénica con y sin activación metabólica en el test de Ames<sup>(8)</sup>.

Igualmente negativo resultó el dato del pFT con y sin activación metabólica en las síntesis de ADN no programada<sup>(10)</sup>.

En este estudio, los resultados obtenidos con el Test de Ames se observan en las Tablas 1 y 2, no encontrándose diferencias significativas con respecto a los controles en presencia o ausencia de activación metabólica.

Cepas Dosis ug/placa	TA 98		TA 100		TA 1535		TA 1537		TA 1538	
	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9
0.00 a	20	16	150	127	21	15	16	6	26	25
0.50	18	12	135	115	19	13	10	5	24	21
5.00	17	16	100	120	18	10	10	3	23	20
50.00	19	15	140	110	18	8	8	6	22	20
500.00	16	13	130	98	10	10	6	2	22	19
Control Positivo	1644	128	1114	1280	118	1300	180	199	591	222

a: solvente, control negativo. Los valores informados son medias.

**Tabla 1.** Respuesta mutagénica del DMT en el Test de Ames.

Cepas Dosis ug/placa	TA 98		TA 100		TA 1535		TA 1537		TA 1538	
	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9
0.00 a	21	17	120	105	20	16	20	8	29	37
0.50	18	13	105	80	10	13	20	6	23	30
5.00	19	15	101	99	11	10	18	5	21	32
50.00	15	14	100	96	9	12	17	8	20	29
500.00	10	13	98	94	5	10	14	7	21	28
Control Positivo	1392	1256	691	808	89	531	139	179	483	775

a: solvente, control negativo. Los valores informados son medias.

**Tabla 2.** Respuesta mutagénica del TPA en el Test de Ames.

La incorporación de TdR-3H en presencia de hidroxurea para suprimir la replicación del ADN fue utilizada para determinar la síntesis de reparación del ADN en un cultivo de células humanas heteroploides HeLa. El DMT y TPA a distintas concentraciones (0.5, 5, 50 y 500 ug ml<sup>-1</sup>) en presencia y ausencia de S-9 durante 1 h de incubación no indujeron lesiones del ADN (Tabla 3); mientras que 100 mM de EMS en ausencia de activación metabólica, incrementó tres veces la incorporación de TdR-3H sobre el valor del control (valor histórico del laboratorio).

En la Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos en el test de Micronúcleo en linfocitos humanos de sangre periférica, pudiendo observarse que para ambos compuestos no se detectan incrementos significativos en su frecuencia.

Es de destacar que en este estudio se ensaya un barrido de concentraciones (0.5, 5, 50 y 500 ug/ml-1) para ambos compuestos (DMT y TPA) que no han sido previamente descritos

Compuesto	Concentraciones (ug ml-1)	% de incorporación de TdR-3H	
		Presencia de hidroxiuurea	Ausencia de hidroxiuurea
DMT	0.5	0.7	0.7
	5.0	0.5	0.6
	50.0	0.6	0.7
	500.0	0.4	0.8
TPA	0.5	0.7	0.7
	5.0	0.8	0.9
	50.0	0.9	0.8
	500.0	0.5	0.7

**Tabla 3.** Efectos del DMT y TPA en la síntesis del ADN no programada.

Compuesto	Concentraciones (ug ml-1)	Micronúcleos / 1000 células binucleadas
DMT	0.5	3
	5.0	2
	50.0	2
	500.0	4
TPA	0.5	3
	5.0	3
	50.0	3
	500.0	3
Control Positivo	50	747
Control Negativo	50	2

**Tabla 4.** Frecuencias de micronúcleos en linfocitos humanos tratados con DMT y TPA.

en la literatura. Sin embargo, estos resultados son similares a los reportados por otros autores<sup>(8-12)</sup> en cuanto a la no detección de efecto mutagénico, bajo estas condiciones de ensayo.

La ausencia de actividad mutagénica del DMT y TPA uniformemente observada en las pruebas del presente estudio, no puede ser considerada como que el DMT y TPA no son carcinogénicos, dado a que hay algunas evidencias que fueron reportadas sobre promoción de tumores en hígado de ratas<sup>(13,14)</sup>; esto implica que las pruebas cortas de genotoxicidad son negativas y los estudios de carcinogenicidad dan resultados positivos. Estos estudios de carcinogenicidad fueron realizados en roedores provocando un aumento del número de peroxisomas en el hígado. El incremento del número de peroxisomas en hígado de roedores, implica aumento del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que puede desarrollar especies reactivas de oxígeno, que tienen la capacidad de dañar el ADN e iniciar la carcinogenesis. Reddy y Lalwani<sup>(15)</sup> propusieron que debido a este mecanismo indirecto de conversión neoplásica se pueden ubicar a estos

agentes en la categoría de carcinógenos epigénicos.

En este estudio se realizó el análisis de mutagenicidad con cinco cepas de Salmonella en el Test de Ames. Además, en el intento de tener otros datos genotoxicológicos, se realizó el screening con una batería de tests que comprende la reparación del ADN en cultivos de células humanas heteroploides HeLa y el estudio citogenético en linfocitos humanos, (test de micronúcleos). Sería interesante poder realizar en otra etapa una serie de tests "in vivo" sobre el líquido biológico de animales tratados crónicamente, y una valoración toxicológica clásica de tratamientos agudo y crónico. Todo esto a los fines de proveer datos concluyentes para una oportuna valoración del potencial tóxico de la manufactura del PET empleado en el campo alimentario.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Defusco,R.; Logman,D.; Bruce,D. (1981) Leaching of mutagens in mineral water from PET bottles. The Science of the Environment. 15: 125-135.
- Goncharova,R.I.; Deminatti,L.; Brown, F. (1988) Mutagenic effect of DMT on mouse somatic cells in vivo. Mutat.Res. 204:703-709.
- National Toxicology Program (1979) Bioassay of dimethylterephthalate for possible carcinogenicity (Cas N° : 120-61-6). DHHS. Publication (NIH) 79-1376, Bethesda, MD.
- Ames,B.N.; McCann J. and Yamasaki, E. (1975) Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsoma-mutagenicity test. Mutat.Res. 31:347-364.
- Bartsch,G.; Kuroki,C.; Malaveille,N.; Loprieno,N.; Barale,R.; Abbondandolo,A.; Bonatti,S.; Rainaldi,G.; Vogel, E. and Davis, A. (1978) Absence of mutagenicity of praziquantel, a new, effective, anti-schistosomal drug, in bacteria, yeasts, insects and mammalian cells. Mutat. Res. 58:133-142.
- Obe,G.; Beek,B. and Vaidya, V.G. (1984) An improved micronuclear assay in lymphocytes. Mutat.Res. 139: 61-65.
- Kruskal,W.H. and Wallis,W.A. (1952) Use of ranks in one criterion variance analysis. J.Amer.Statist.Ass. 47:583-621.
- Kozumbo,W.; Lerner,G.; Weisman,J. (1982) Assessment of mutagenesis phthalate esters. Env.Health Persp. 45:109-130.
- Zeiger,L.R.; Errol,J.; Haworth,J.; Steve,R.; Mortelmans,A.; Kristien,A.; Speck,A. and William,N. (1985) Mutagenicity testing of di (2-ethylhexyl) phthalate and related chemicals in Salmonella. Env.Mutagen. 7:213-232.
- Werner,K.L. (1986) Investigation of the potential for binding of DEHP to rat liver DNA in vivo. Env.Health Persp 65:267-269.
- Goncharova,R.I.; Deminatti,L.; Brown,F. (1988) Mutagenic effect of DMT on mouse somatic cells in vivo. Mutat.Res. 204:703-709.
- Shelby,M.D.; Erexson,G.L.; Hook,G.J. and Tice,R.R. (1993) Evaluation of a three-exposure mouse bone marrow micronucleus protocol: results with 49 chemicals. Environ.Mol. Mutagen. 21:160-179.
- Conway,K.; Costa,M.; Miller,C.; Patierno,S.R. and Thornhill,P.G. (1989) Peroxisome proliferation, DEHP and tumorigenesis. Drug.Metab.Rev. 21:65-102.
- Ward,J.M.; Rice,J.M.; Creasia,D.; Lynch,P. and Riggs,C. (1983) Dissimilar patterns of promotion by di-(2-ethylhexyl) phthalate and phenobarbital of hepatocellular neoplasia initiated by diethylnitrosamine in B6C3F1 mice. Carcinogenesis 4:1021-1029.
- Reddy,J.K. and Lalwani,N.D. (1983) Carcinogenesis by hepatic peroxisome proliferators: evaluation of the risk of hypolipidemic drugs and industrial plasticizers to humans. CRC Crit.Rev.Toxicol. 12:1-58.

## CRITERIO DE SALUD AMBIENTAL (OMS) Nº 182 TALIO

### ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA (WHO) Nº 182 THALLIUM

#### RESUMEN

#### 1. Identidad, propiedades físicas y químicas, y métodos analíticos

El talio elemental es un metal blando y maleable de color blanco azulado. Cuando se expone al aire húmedo o al agua, se produce respectivamente una oxidación rápida de su superficie o la formación del hidróxido correspondiente. Tiene dos estados de oxidación importantes: talio(I) y talio(III).

Los componentes monovalentes (taliosos) se comportan de manera análoga a los metales alcalinos, como por ejemplo el potasio, mientras que los compuestos trivalentes (tálicos) son menos básicos, parecidos al aluminio.

A diferencia de los compuestos inorgánicos en los que el ion talio(I) es más estable en soluciones acuosas que el ion talio(III), este último es más estable en compuestos orgánicos.

La determinación del talio en muestras del medio ambiente es algo difícil, porque sus concentraciones son del orden de  $\mu\text{g}/\text{kg}$  o inferiores.

En general, cuando no se aplica una concentración previamente establecida de talio, los límites de la determinación en minerales, suelos y polvo son de unos  $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ , en soluciones acuosas de  $0,1 \mu\text{g}/\text{litro}$  y en materiales biológicos de unos pocos  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

La espectrometría de absorción atómica en horno de grafito es un método analítico idóneo para aplicaciones en las que se necesita una alta sensibilidad debido a las pequeñas cantidades de muestra con un contenido de talio de unos pocos  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . La espectrometría de masas con dilución isotópica y la espectrometría de plasma-masa con acoplamiento inductivo, posiblemente combinada con la dilución isotópica, son métodos excelentes de determinación, con buena precisión y exactitud, del orden de  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

#### 2. Fuentes de exposición humana y ambiental

El talio está presente en el medio ambiente como consecuencia de procesos naturales y procedente de fuentes debidas a actividades humanas. Está muy extendido en la naturaleza y se encuentra sobre todo en las menas de sulfuro de diversos metales pesados, aunque suele estar en concentraciones bajas. Sólo hay unas pocas zonas con concentraciones naturales de talio muy elevadas.

La producción industrial es muy pequeña (el consumo industrial en todo el mundo en 1991 fue de 10-15 toneladas/año). El talio y sus compuestos tienen una amplia variedad de aplicaciones industriales. Ahora se ha limitado rigurosamente su uso como

depilatorio humano y como rodenticida e insecticida. Sus principales aplicaciones están en las industrias eléctrica y electrónica y en la producción de vidrios especiales.

Otro campo importante de aplicación es el uso de radioisótopos en medicina para la escintigrafía, así como el diagnóstico de melanomas y el uso de compuestos de aritalio(III) en bioquímica.

Las pérdidas en el medio ambiente proceden sobre todo de la fundición de minerales (depósitos de materiales de desecho y emisiones a la atmósfera), las centrales eléctricas alimentadas por carbón, las fábricas de ladrillos y de cemento (todas ellas con emisiones a la atmósfera).

Se calcula que los procesos industriales movilizan en todo el mundo de 2000 a 5000 toneladas/año. Las emisiones de talio debidas a procesos industriales varían mucho en función del tipo de industria.

Las emisiones de las centrales eléctricas alimentadas por carbón pueden contener una concentración de talio de  $700 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de aire de salida y las de las fábricas de cemento hasta  $2500 \mu\text{g}/\text{m}^3$ . Esta última cifra se puede reducir hasta  $< 25 \mu\text{g}/\text{m}^3$  mediante el uso de otras materias primas y cambiando el proceso de producción.

El talio se volatiliza durante la combustión del carbón o la materia prima utilizada en la fabricación de cemento y se vuelve a condensar sobre la superficie de las partículas de ceniza en las partes más frías del sistema.

Estas partículas contienen hasta  $50 \text{ mg}$  de talio/kg de polvillo de ceniza y son con frecuencia de pequeño tamaño, de manera que los filtros de las fábricas de cemento retienen sólo un 50%.

Alrededor de un tercio de las partículas que emiten las centrales eléctricas son también de un tamaño tan pequeño que se pueden depositar en las vías respiratorias inferiores.

Los efluentes procedentes de los depósitos de decantación de residuos mineros, con un contenido de hasta  $1620$  y  $36 \mu\text{g}/\text{litro}$ , produjeron en los ríos de vertido niveles elevados de  $88$  y  $1 \mu\text{g}/\text{litro}$ , respectivamente. En los estanques de agua de lluvia cercanos a una fábrica de cemento se encontraron hasta  $37 \mu\text{g}/\text{litro}$ .

En el suelo se han detectado concentraciones máximas de  $60 \text{ mg}/\text{kg}$  en zonas próximas a materiales de desecho de minas; en las cercanías de fundiciones de metales no preciosos y de fábricas de ladrillos y de cemento se detectaron concentraciones de  $2$ ,  $0,6$  y  $27 \text{ mg}/\text{kg}$ , respectivamente.

En las zonas contaminadas, la mayoría de las hortalizas, frutas y carne contienen menos de  $1 \text{ mg}$  de talio/kg de peso fresco. Las concentraciones son superiores en las coles (Brassicaceae), habiéndose

notificado niveles de hasta 45 mg/kg en la col rizada verde. Las concentraciones de talio en los tejidos de los animales de granja se corresponden con las concentraciones en el forraje. En las cercanías de algunas fábricas de cemento, se han descrito niveles superiores en el forraje (por ejemplo, hasta 1000 mg/kg en la colza) y en la carne de vacuno y de conejo (hasta 1,5 y 5,8 mg/kg, respectivamente).

### 3. Transporte, distribución y transformación en el medio ambiente

Cerca de fuentes localizadas, como centrales eléctricas de carbón, algunas fábricas de cemento y operaciones de fundición de metales, la fuente principal de talio en el aire es la emisión de polvillo de ceniza. Los resultados de un estudio indican que casi todo el talio del polvo flotante procedente de una fábrica de cemento estaba presente como cloruro de talio(I) soluble.

El destino final del talio que se incorpora al suelo (debido, por ejemplo, al depósito del polvillo de ceniza) depende fundamentalmente del tipo de suelo. La retención es máxima en suelos que contienen grandes cantidades de arcilla, materia orgánica y óxidos de hierro/manganeso.

La incorporación de talio a complejos estables sólo produce concentraciones más elevadas en las capas superiores del suelo. La absorción del talio por la vegetación va aumentando a medida que el pH del suelo disminuye. En algunos suelos fuertemente ácidos se puede producir lixiviación de cantidades importantes de talio al terreno y las aguas superficiales próximos.

La mayor parte del talio disuelto en agua dulce suele ser monovalente.

Sin embargo, en agua dulce muy oxidada y en la mayor parte del agua marina puede predominar la forma trivalente.

El talio se puede eliminar de la columna de agua y acumularse en el sedimento mediante diversas reacciones de intercambio, formación de complejos o precipitación.

Aunque puede darse una bioconcentración del talio, la bioamplificación del elemento en las redes alimentarias acuática o terrestre es improbable.

### 4. Niveles medioambientales y exposición humana

En zonas no contaminadas por talio, las concentraciones en el aire suelen ser  $< 1 \text{ ng/m}^3$ , en el agua  $< 1 \text{ } \mu\text{g/litro}$  y en los sedimentos del agua  $< 1 \text{ mg/kg}$ .

Las concentraciones medias en la corteza terrestre oscilan entre 0,1 y 1,7 mg/kg, pero es posible encontrar niveles muy elevados, por ejemplo hasta de 1000 mg/kg en el carbón, y los minerales de talio que raramente se encuentran contienen hasta un 60% del elemento. Los alimentos de origen vegetal y animal suelen contener  $< 1 \text{ mg/kg}$  de peso seco y la ingestión

media humana de talio con los alimentos parece ser inferior a  $5 \text{ } \mu\text{g/día}$ . Se estima que la absorción a través del sistema respiratorio es  $< 0,005 \text{ } \mu\text{g}$  de talio/día.

Se dispone sólo de datos limitados sobre el contenido real de talio en el aire de los lugares de trabajo. Las concentraciones observadas más recientemente (decenio de 1980) fueron  $< 22 \text{ } \mu\text{g}$  de talio/m<sup>3</sup> (en la producción de una aleación especial de talio y en una fundición de talio). El promedio de la concentración determinada en orina fue del orden de 0,3-8  $\mu\text{g/litro}$  en los trabajadores del cemento y de 0,3-10,5  $\mu\text{g/litro}$  en los de fundierías.

### 5. Cinética y metabolismo en animales de laboratorio y en el ser humano

El talio se absorbe con rapidez y facilidad a través de los tractos gastrointestinal y respiratorio, así como por vía cutánea. Se distribuye en poco tiempo por todos los órganos y atraviesa la placenta (como se demuestra por la rápida absorción fetal) y la barrera hematoencefálica.

Debido a su acumulación rápida en las células, las concentraciones de talio en la sangre no se corresponden con su nivel en los tejidos.

En casos de intoxicación aguda de animales experimentales o de personas, se producen al principio concentraciones de talio elevadas en el riñón, bajas en el tejido adiposo y en el cerebro e intermedias en los demás órganos; luego aumentan también sus niveles en el cerebro.

La eliminación del talio se puede producir a través del tracto gastrointestinal (básicamente mediante mecanismos independientes de la excreción biliar), el riñón, el pelo, la piel, el sudor y la leche materna. Se puede producir una reabsorción intestinal (sobre todo desde el colon), con la consiguiente disminución en la eliminación total del organismo.

En la rata, las principales vías de eliminación del talio son la gastrointestinal (unos dos tercios) y la renal (alrededor de un tercio), siendo semejante la contribución de ambas vías en el caso de los conejos. El talio se elimina también por la saliva.

Al igual que con otras muchas sustancias, la excreción de talio en el ser humano difiere de la observada en los animales de laboratorio; en aquél la velocidad de excreción es mucho más baja (constante de velocidad = 0,023-0,069 día<sup>-1</sup>) que en éstos (la constante de velocidad media = 0,18 día<sup>-1</sup>). Otra diferencia importante entre el hombre y los animales es la contribución relativa de las distintas vías de excreción.

La excreción renal parece ser mucho más importante en el ser humano que en los animales, aunque no se ha determinado completamente su contribución relativa a la eliminación total del organismo, debido fundamentalmente a la falta de suficientes datos respecto al hombre. Además, los niveles de exposición, su duración, la alteración de la función de los órganos de excreción, la absorción de

potasio y el tratamiento correspondiente de la intoxicación aguda pueden influir considerablemente en los resultados.

En un estudio sobre la excreción renal de talio se notificó un resultado de alrededor del 73%, mientras que a través del tracto gastrointestinal fue de sólo el 3,7% de la cantidad diaria excretada.

La excreción estimada a través del pelo y la piel y del sudor fue del 19,5% y el 3,7%, respectivamente.

La semivida biológica del talio en animales de laboratorio oscila generalmente entre 3 y 8 días; en el ser humano es de unos 10 días, aunque se ha informado de valores superiores a los 30 días.

No se dispone de datos sobre su biotransformación.

## **6. Efectos en mamíferos de laboratorio y en sistemas de ensayo in vitro**

No hay diferencias específicas sorprendentes por especies en cuanto a la toxicidad de las sales de talio(I). Normalmente, una ingestión oral de 20 a 60 mg de talio/kg de peso corporal es letal en un plazo de una semana.

Los cobayos son ligeramente más sensibles que otros animales de experimentación. El óxido tálico(III) insoluble en agua muestra una toxicidad aguda algo más baja por vía oral o parenteral que las sales de talio(I).

Al comparar los datos de toxicidad aguda se aprecia una elevada biodisponibilidad a partir de todas las vías de exposición.

Afecta a la mayor parte de los órganos, pero los signos de intoxicación y la sucesión de los mismos indican una cierta variabilidad intraespecífica e interespecífica.

Los síntomas de la intoxicación aguda se suceden en general de la manera siguiente: en primer lugar anorexia, vómitos y depresión, más tarde diarrea, cambios cutáneos (inflamación en los orificios corporales, furúnculos cutáneos, pérdida de pelo) y luego disnea y trastornos nerviosos.

Por último, la insuficiencia respiratoria que provoca la muerte.

Los síntomas de la intoxicación crónica son semejantes a los de la intoxicación aguda. Se produce regularmente pérdida de pelo.

En el examen histológico se puede observar necrosis u otros daños celulares.

Se han detectado cambios necróticos en los riñones, el hígado, el intestino, el corazón y el sistema nervioso.

En numerosas células se ha observado hinchazón de las mitocondrias y pérdida de crestas, dilataciones del retículo endoplasmático liso, aumento del número de vacuolas autofágicas y de gránulos de lipofucsina y pérdida de microvellosidades.

Las alteraciones de procesos funcionales debidas al talio pueden estar provocadas por la rotura física de las membranas de los orgánulos subcelulares. En el

corazón, los efectos arritmogénicos se limitan al nódulo sinoatrial. La intoxicación por talio provoca la alteración selectiva de determinados elementos de la conducta relacionados con efectos bioquímicos (lo que indica un daño celular) en ciertas regiones cerebrales.

Algunos efectos neurológicos parecen deberse a la acción directa, por ejemplo la ataxia y el temblor a causa de trastornos del cerebelo o alteraciones de la actividad endocrina debidos a cambios en el hipotálamo.

El talio puede activar el sistema nervioso autónomo, fundamentalmente el adrenérgico.

En los nervios periféricos parece interferir a nivel presináptico en la liberación espontánea del transmisor, ejerciendo un efecto antagónico en estos procesos dependientes del calcio.

No se conoce todavía el mecanismo exacto de la toxicidad del talio.

Se han propuesto varios mecanismos, que tal vez están relacionados entre sí. Un aspecto importante de la intoxicación por talio es el aumento significativo de la peroxidación de lípidos y de la actividad de una enzima lisosómica, la  $\beta$ -galactosidasa.

El resultado es una deficiencia de glutatión que provoca la acumulación de peróxidos de lípidos en el cerebro y, al parecer, por último, la formación de gránulos de lipofucsina. Parece que el mecanismo de acción del talio radica fundamentalmente en una alteración de la función mitocondrial.

Los animales con intoxicación crónica suelen presentar una actividad sexual reducida, y en el sistema reproductor del macho son evidentes los efectos gonadotóxicos del talio.

En los testículos de ratas que recibieron 10 mg de talio/litro de agua de beber durante 16 días, las células de Sertoli fueron las más sensibles y la descamación del epitelio espermatogénico provocó la aparición de espermatozoides inmaduros en el semen.

Esto podría explicar el menor índice de supervivencia de los embriones o la reducción del período de vida de la descendencia tras una intoxicación subletal por talio de los padres.

Tras la inyección de talio en huevos, se observaron en los embriones de pollo efectos teratogénicos, inhibición del crecimiento y trastornos del desarrollo óseo, pero en los mamíferos estos efectos son discutibles, incluso a dosis tóxicas para la madre. Aunque se ha demostrado que atraviesa la placenta, muchas estirpes de ratones y ratas no muestran efectos teratogénicos en absoluto, o sólo ligeramente.

Dos pruebas de mutagenicidad microbiológica en *Salmonella typhimurium* dieron resultados negativos, y las pruebas in vivo sobre intercambio de cromátides hermanas fueron controvertidas.

Sin embargo, en estudios aislados se han observado aberraciones cromosómicas o un aumento significativo de la fragmentación del ADN de cadena sencilla.

No se dispone de estudios de larga duración sobre la carcinogenicidad del talio.

## 7. Efectos en el ser humano

Debido a que las sales de talio son insípidas, inodoras, incoloras, muy tóxicas, fáciles de obtener en el pasado e incluso ahora en algunos países en desarrollo, este elemento se ha utilizado a menudo con fines suicidas, homicidas y de aborto ilegal, provocando intoxicación aguda. Es más, se considera que la intoxicación por talio es una de las causas más frecuentes, a escala mundial, de intoxicación humana voluntaria o accidental. Los conocimientos sobre la intoxicación crónica se limitan a la exposición profesional, a grupos de población que viven en zonas contaminadas y a casos de homicidio con dosis bajas múltiples.

Los síntomas de toxicidad aguda del talio dependen de la edad, la vía de administración y la dosis.

Las dosis que han resultado letales varían entre 6 y 40 mg/kg, con un promedio de 10 a 15 mg/kg. Sin tratamiento, esta dosis media suele producir la muerte en un plazo de 10 a 12 días, pero también se han descrito casos de defunción en 8-10 horas.

Se considera que la gastroenteritis, la polineuropatía y la alopecia son los tres síntomas clásicos de la intoxicación por talio, pero en algunos casos no se observó gastroenteritis ni alopecia. También se producen otros signos y síntomas, con un orden de aparición, amplitud e intensidad variables.

Los síntomas de la intoxicación son a menudo imprecisos y consisten al principio en anorexia, náuseas, vómitos, sabor metálico, salivación, dolor retrosternal y abdominal y a veces hemorragia gastrointestinal (sangre en heces). Luego se suele observar estreñimiento, que puede ser resistente al tratamiento, interfiriendo así con el antídoto administrado.

Después de un periodo de dos a cinco días aparecen lentamente algunos de los trastornos asociados normalmente al talio, con independencia de la vía de exposición.

Aunque los efectos en el sistema nervioso central y periférico varían, un rasgo constante y característico de la intoxicación por talio en el hombre es la sensibilidad extrema de las piernas, a la que sigue el «síndrome de los pies urentes» y la parestesia. Su acción sobre el sistema nervioso central (SNC) se refleja en síntomas tales como alucinaciones, letargia, delirio, convulsiones y coma.

Los síntomas circulatorios normales son hipertensión, taquicardia y, en los casos graves, insuficiencia cardíaca.

Después de la segunda semana de la intoxicación se suele producir pérdida del pelo y, a veces, del vello; la distrofia de las uñas se detecta por la aparición de rayas semicirculares blancas (líneas de Mee) tres o cuatro semanas después de la intoxicación. Las regiones negras que se observan en las papilas pilosas no se producen por la deposición de pigmentos o de talio, sino que se deben a pequeñas cantidades de aire

que entran en el tallo piloso.

En los casos letales, la muerte sobreviene en un plazo que oscila entre unas horas y varias semanas, pero normalmente se produce a los 10 ó 12 días. Las causas del fallecimiento son generalmente insuficiencia renal, del SNC y cardíaca.

En intoxicaciones subletales, la recuperación requiere con frecuencia meses. A veces persisten los trastornos neurológicos y mentales, así como las anomalías electroencefalográficas y la ceguera. Por otra parte, parece ser que los supervivientes sufren un deterioro de las funciones intelectuales.

En casos de intoxicación crónica los síntomas son semejantes, pero en general más leves que en la intoxicación aguda. A veces se produce ceguera permanente.

La recuperación completa requiere meses y se puede interrumpir por recaídas.

En un caso bien investigado de emisión de talio alrededor de una fábrica de cemento de Lengerich, Alemania, las concentraciones de talio en el pelo y la orina de las personas expuestas no se correspondían con algunas características típicas que suelen estar relacionadas con la intoxicación crónica por talio, sino sólo con síntomas neurológicos subjetivos.

Las autopsias y biopsias realizadas tras las intoxicaciones por talio ponen de manifiesto daños en diversos órganos.

Por ejemplo, tras la ingestión de dosis letales se producen hemorragias en la mucosa intestinal, los pulmones, las glándulas endocrinas y el corazón, infiltraciones grasas en el hígado y el tejido cardíaco, así como cambios degenerativos en los glomérulos y los túbulos renales.

En el cerebro se puede observar degeneración grasa de las células ganglionares, lesiones axonales y desintegración de las vainas de mielina.

Las variaciones de la presión sanguínea pueden deberse a los efectos directos del talio en el sistema nervioso autónomo.

La intoxicación por talio produce neuropatía periférica mixta simétrica.

Los nervios distales sufren más daños que los proximales, y los nervios de axón corto, por ejemplo los craneales, se ven afectados antes, aunque en menor grado.

Los axones se hinchan y contienen vacuolas y mitocondrias dilatadas.

En los casos de intoxicación letal, se han observado daños graves del nervio vago, desnervación del seno carotídeo y lesiones de los ganglios simpáticos. En la intoxicación subletal, los nervios afectados pueden sufrir degeneración axonal, con recuperación nula o sólo parcial en un plazo de dos años.

A veces se produce una neuritis retrobulbar con los consiguientes trastornos visuales, que puede persistir durante meses, después de un tratamiento con productos depilatorios con talio; este trastorno puede desembocar incluso en la atrofia óptica.

Los datos sobre los efectos del talio en la reproducción humana son limitados. Puede afectar negativamente al ciclo menstrual, la libido y la potencia masculina. Se sabe que la intoxicación crónica tiene efectos sobre el esperma.

Al igual que en los estudios con animales, se ha observado que atraviesa la placenta; esto se ha puesto de manifiesto tras un aborto inducido por el talio. Sin embargo, en unos 20 casos de intoxicación por talio durante el embarazo no se vio afectado el desarrollo fetal, salvo el peso relativamente bajo y la alopecia de los recién nacidos.

No se dispone de informes sobre efectos carcinógenos o datos sobre efectos inmunológicos debidos al talio. No hay pruebas suficientes de efectos genotóxicos.

El tratamiento de la intoxicación por talio combina la diuresis forzada, el uso de carbón vegetal activado y la prevención de la reabsorción en el colon mediante la administración de azul de Prusia, hexacianoferrato(II) férrico potásico.

## 8. Relación dosis-respuesta en el ser humano

La concentración media de talio en orina en la población no expuesta es de 0,3 a 0,4 µg/litro.

Habida cuenta de que el talio tiene una semivida biológica breve, establecida en días, y suponiendo unas condiciones estables, se puede tomar esta concentración urinaria como indicador de la dosis total tras la inhalación y la ingestión con los alimentos.

La concentración media en la orina en una muestra de población que vive cerca de una fuente de emisión de talio fue de 5,2 µg/litro.

Se encontró una relación dosis-respuesta clara entre las concentraciones en la orina de talio y el predominio de cansancio, debilidad, trastornos del sueño, dolor de cabeza, nerviosismo, parestesia y dolor muscular y de las articulaciones. Se informó asimismo de una relación dosis-respuesta semejante cuando se utilizó el talio en el pelo como indicador de la exposición.

El Grupo Especial de Trabajo consideró que las exposiciones que producen concentraciones de talio en la orina inferiores a 5 µg/litro probablemente no son perjudiciales para la salud.

En el margen de 5 a 500 µg/litro, la magnitud del riesgo y la gravedad de los efectos adversos son inciertas, mientras que la exposición que da lugar a más de 500 µg/litro está asociada a una intoxicación clínica.

## 9. Efectos en otros organismos en el laboratorio y en el medio ambiente

El talio afecta a todos los organismos, pero hay diferencias específicas de especies e incluso de variedades. Los diferentes compuestos inorgánicos de talio(I) y talio(III), así como sus compuestos orgánicos, pueden tener distinta toxicidad. El efecto más

importante del talio en los microorganismos parece ser la inhibición de la nitrificación por las bacterias del suelo.

Los resultados de un estudio parecen indicar que la estructura de la flora microbiana se altera a concentraciones en el suelo comprendidas entre 1 y 10 mg/kg de peso seco, pero no se precisó la forma de talio utilizada en este experimento.

Absorben talio todas las partes de las plantas, pero sobre todo las raíces.

Una vez que ha penetrado en las células, se concentra de forma desigual en el citosol, probablemente unido a un péptido.

Las concentraciones de talio que se observan en las plantas dependen de las propiedades del suelo (en particular el pH y el contenido de arcilla y materia orgánica), así como de la fase de desarrollo y de la parte de la planta.

Se acumula en las zonas que contienen clorofila, pero lo hace en menor grado en las plantas resistentes al talio.

Reduce la producción de oxígeno, posiblemente por acción directa sobre la transferencia de electrones en el fotosistema II.

Su interferencia con los pigmentos se pone de manifiesto por la aparición de clorosis.

Por otra parte, en el mecanismo de la toxicidad parece intervenir una alteración de la absorción de oligoelementos.

Afecta también al crecimiento, siendo más sensibles las raíces que las hojas o los tallos. Estos efectos se han descrito tras la exposición a formas monovalentes de talio con niveles de sólo 1 mg/kg de tejido vegetal seco.

En la mayoría de los estudios de los efectos en los organismos acuáticos se han utilizado compuestos solubles de talio monovalente.

La concentración más baja notificada capaz de afectar a las especies acuáticas es de 8 µg/litro, con una reducción del crecimiento de las plantas.

Los invertebrados se suelen ver afectados a concentraciones más bajas que los peces (los valores de la CL50 en 96 horas son de 2,2 mg de talio/litro para los dáfnidos y de 120 mg/litro para un pez de agua dulce). El valor más bajo de la CL50, notificado tras la exposición durante unos 40 días, fue de 40 µg/litro para los peces.

Muchos casos de intoxicación por talio de la flora y fauna silvestres se han debido a su aplicación en gran escala como rodenticida.

En animales que se alimentan de semillas y en depredadores afecta gravemente sobre todo al SNC y al aparato gastrointestinal.

Estos mismos efectos se pueden observar en los animales de granja.

A esto hay que añadir que el talio provoca una pérdida de plumas dorsales en los patos, salivación de la nariz y la boca del ganado vacuno y reducción del crecimiento de los pollos de asar, las gallinas ponedoras, las ovejas y los novillos.

# CRITERIO DE SALUD AMBIENTAL (OMS) Nº 175 - RODENTICIDAS ANTICOAGULANTES

## ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA (WHO) Nº 175 - ANTICOAGULANT RODENTICIDES

### RESUMEN

#### 1. Generalidades

Los anticoagulantes descritos en esta monografía son los utilizados principalmente en agricultura y en la lucha contra los roedores urbanos. La warfarina, el primer rodenticida anticoagulante de uso generalizado, se introdujo como agente eficaz para el tratamiento de la tromboembolia en el ser humano.

De acuerdo con su estructura química, los rodenticidas anticoagulantes pueden agruparse en dos categorías, las hidroxicumarinas y las indandonas, aunque su mecanismo de acción es similar.

#### 2. Propiedades y métodos analíticos

Los rodenticidas anticoagulantes se presentan en forma cristalina sólida o en polvo, y son ligeramente solubles en agua. La mayoría de ellos son estables en condiciones de almacenamiento normales.

La mayoría de los procedimientos para la determinación de los rodenticidas anticoagulantes se basan en cromatografía líquida de alta resolución.

#### 3. Fuentes de exposición humana y ambiental

Las hidroxicumarinas de primera generación se introdujeron como rodenticidas a finales de los años cuarenta. La aparición de resistencia a la warfarina y a otros anticoagulantes de primera generación dio lugar a la elaboración de anticoagulantes más potentes, de segunda generación. Las concentraciones de componentes activos en los cebos varían en función de la eficacia de los rodenticidas.

#### 4. Distribución, niveles y exposición ambientales

Los rodenticidas anticoagulantes se utilizan principalmente como formulaciones para cebo. Dada su baja volatilidad, las concentraciones en el aire son insignificantes. Como son muy poco solubles en agua, es improbable que su uso sea fuente de contaminación del agua.

Como los rodenticidas anticoagulantes no están pensados para su aplicación directa a cosechas en pie, no son de prever residuos en alimentos vegetales.

Los vertebrados no destinatarios están expuestos a los rodenticidas principalmente por medio del consumo del cebo y de forma secundaria por el consumo de roedores envenenados. Los cebos en bolitas y de grano entero son muy atractivos para las aves.

La warfarina se utiliza como agente terapéutico para la tromboembolia.

Hay un potencial de exposición ocupacional a los rodenticidas anticoagulantes durante la fabricación,

formulación y aplicación del cebo, pero no se dispone de datos sobre los niveles de exposición.

#### 5. Modo de acción y metabolismo

Los rodenticidas anticoagulantes son antagonistas de la vitamina K. Su lugar principal de acción es el hígado, donde varios de los precursores de la coagulación de la sangre sufren un procesamiento post-traslación dependiente de la vitamina K antes de convertirse en los zimógenos procoagulantes respectivos. Parece que el mecanismo de acción es la inhibición de la reductasa epoxídica K1.

Los rodenticidas anticoagulantes se absorben fácilmente por el tracto intestinal, y también pueden absorberse por la piel y el sistema respiratorio. Tras la administración oral, la principal vía de eliminación en diversas especies son las heces.

La degradación metabólica de la warfarina y las indandonas en ratas es principalmente la hidroxilación. Sin embargo, los anticoagulantes de segunda generación se eliminan principalmente como compuestos inalterados. El bajo nivel de excreción urinaria impide aislar los metabolitos a partir de la orina.

El hígado es el órgano principal para la acumulación y almacenamiento de anticoagulantes rodenticidas. La acumulación también tiene lugar en la grasa.

#### 6. Efectos en los mamíferos y en los sistemas de prueba in vitro

Los signos de envenenamiento en ratas y ratones son los asociados a una mayor tendencia a la hemorragia.

Hay una gran variación en la DL50 de los rodenticidas anticoagulantes, siendo máxima la toxicidad por vía oral. También es alta la toxicidad cutánea y por inhalación.

Los márgenes de toxicidad aguda de algunos anticoagulantes son similares en el caso de los mamíferos no destinatarios y de los roedores de destino, pero los espectros de toxicidad para los anticoagulantes pueden variar entre las especies.

Tras una administración oral repetida en ratas, los principales efectos observados son los asociados a la acción anticoagulante.

Se dispone de pocos datos sobre la exposición repetida de especies distintas de los roedores.

Un estudio sobre la warfarina en ratas ha indicado efectos sobre el desarrollo. Por lo demás, no hay pruebas convincentes de que los anticoagulantes sean teratogénicos en animales de experimentación.

No hay prueba que sugiera que los rodenticidas anticoagulantes son mutagénicos, pero se dispone de datos insuficientes sobre los compuestos individuales para demostrar la inexistencia de mutagenicidad. La

sobrecarga, el sexo y la alimentación son importantes factores modificadores de la toxicidad de los anticoagulantes en los roedores.

Se han dado casos de envenenamiento de animales domésticos tras la ingestión de cebos anticoagulantes. Las muertes y los síndromes clínicos graves se deben por lo general a anticoagulantes de segunda generación.

La diferencia principal entre la warfarina y los demás anticoagulantes (tanto las indandonas como las hidroximarinas de segunda generación) es que éstos tienen mayor tiempo de retención en el organismo y por consiguiente un efecto más prolongado que la warfarina. Por ello, en los casos de envenenamiento, el tratamiento antidoto con vitamina K1 debe proseguir durante un periodo más largo.

## 7. Efectos en el ser humano

Se han notificado muchos casos de envenenamiento (tanto intencionados como no intencionados). También se han producido unos pocos casos de intoxicación por exposición ocupacional a los anticoagulantes.

Los síntomas de intoxicación aguda por rodenticidas anticoagulantes van desde una mayor tendencia a la hemorragia en el envenenamiento leve o moderado a una hemorragia masiva en casos más graves. Los signos de envenenamiento aparecen con un retraso de uno a varios días después de la absorción.

La warfarina va asociada en el ser humano a la producción de malformaciones del desarrollo cuando se toma como agente terapéutico durante el embarazo. No se han notificado casos de defectos de desarrollo tras el uso de anticoagulantes como rodenticidas.

La concentración de protrombina plasmática orienta sobre la gravedad de la intoxicación. Es una indicación más sensible que pruebas generales como el tiempo de protrombina. En la exposición ocupacional repetida, la medición directa de cantidades ínfimas de descarboxiprotrombina en circulación o de 2,3-epóxido de vitamina K en circulación pueden constituir una evaluación más sensible.

El tratamiento del envenenamiento con anticoagulantes se gradúa de acuerdo con la gravedad de la intoxicación. El tratamiento farmacológico específico consiste en la administración parenteral de vitamina K1 con administración simultánea, en los casos graves, de componentes sanguíneos. La medición del tiempo de protrombina ayuda a determinar la eficacia y la duración de tratamiento necesaria.

## 8. Efectos en otros organismos en el laboratorio y sobre el terreno

Los posibles efectos de los rodenticidas en organismos no destinatarios pueden dividirse en dos categorías: primarios (envenenamiento directo por consumo de cebo) y secundario (por consumo de roedores envenenados).

En la forma del producto técnico, los anticoagulantes son muy tóxicos para los peces. Como formulaciones para cebo es improbable que planteen riesgos en razón de su baja solubilidad en agua. Por esta razón, a menos que se utilicen de forma indebida, no están al alcance de los peces.

La susceptibilidad de las aves a los rodenticidas anticoagulantes es variable.

Es difícil evaluar los riesgos para las aves que entraña el consumo directo porque la mayoría de los estudios publicados consisten en ensayos de toxicidad en condiciones de laboratorio. El atractivo del cebo de grano integral para las aves pequeñas aumenta el riesgo en las condiciones de campo.

Los estudios en laboratorio de la toxicidad secundaria con la fauna silvestre han mostrado que los predadores cautivos pueden intoxicarse mediante alimentación sin otra elección con presas que se han envenenado con anticoagulante o a las que se ha administrado este producto. Se tiene noticias de algunas muertes de predadores en su medio natural.

## 9. Evaluación y conclusión

Los rodenticidas anticoagulantes perturban los mecanismos normales de coagulación de la sangre, determinando una mayor tendencia a la hemorragia y, por último, una hemorragia abundante.

La exposición no intencionada de la población general a los rodenticidas anticoagulantes es improbable.

El contacto ocupacional es una fuente potencial de exposición significativa. Puede tener lugar durante la elaboración y formulación, así como durante la preparación y aplicación del cebo.

Los compuestos de rodenticida anticoagulante se absorben fácilmente por el tracto intestinal, y por la piel y el sistema respiratorio.

El hígado es el órgano principal de acumulación y almacenamiento. La concentración de protrombina plasmática es una buena orientación de la gravedad de la intoxicación aguda y de la eficacia y la duración necesaria de la terapia.

### El antidoto específico es la vitamina K1.

La principal diferencia entre los rodenticidas anticoagulantes de la primera generación y los de la segunda es que éstos últimos tienen una mayor retención en el organismo y por ello suelen dar lugar a un periodo de hemorragia más prolongado.

La mayoría de los anticoagulantes son estables en condiciones de uso normal. Su baja solubilidad en agua y baja concentración en los cebos hace improbable que sean una fuente de contaminación del agua. Parece que se asocian rápidamente a las partículas del suelo, con desorción muy lenta y nula propiedad de lixiviación.

Los organismos no destinatarios pueden correr al riesgo de consumir directamente cebos (riesgo primario) y de ingerir roedores envenenados (riesgo secundario).

## INDICES - INDEXES Volumen 5 (1997)

### Indice de autores - Authors index

ACOSTA DE PEREZ, O. ....	67-71	MIZUNUMA, K. ....	2
AGUIAR VALIM, M. F. C. F. de .....	68	MUSSART de COPPO, N. ....	71
CARVALHO, D.G. de .....	77	OLIVEIRA FILHO, A. M. de .....	84
CASTANE, P. ....	9	PEREZ, A. ....	6
CONTRERAS, F. ....	87	PINEDA, E. V. ....	1
COSTA MOREIRA, J. ....	2	RATTO, M. C. ....	115
DELLAMEA, A. B. ....	115	REYES, F. G. R. ....	68
DEMICHELIS, S. O. ....	9	RIBEIRO, L. R. ....	75
ESPINA, S. ....	87	ROVEDATTI, M. G. ....	9
FAVERO SALVADORI, D. M. ....	75	RUIZ, R. ....	71
FELTES, J. ....	11	SALIBIAN, A. ....	9
FONOVICH de SCHROEDER T. M. ....	81	SANCHEZ NEGRETE, M. ....	71
KAWAL, T. ....	2	SMITH, E. M. B. ....	14
KOSCINCZUK, P. ....	71	SOUSA ROCHA, N. ....	75
LIMA, L. V. de .....	77	SOUSA da SILVA, C. R. ....	2
MARUNAK, S. ....	71	STROBL, A. M. ....	6
MAS, M. ....	6	TAVARES, D. R. ....	68
MASSARI, L. A. ....	6	TEIBLER, P. ....	71
MATTA CHASIN, A. A. ....	77	VETTORAZZI, G. ....	14
MIDIO, A.F. ....	77	VIANA de CAMARGO, J. L. ....	75

### Indice Temático - Subject Index

Acetato de etilo.....	2	Adhesive tape .....	2
Adhesivos/as .....	2	Advice (idiomatic) to authors .....	115
Adolescencia, infancia, riesgo químico .....	14	Arginase, <i>Bufo arenarum</i> , cadmium .....	7
Amoniaco, carpa hervibora, temperatura, tasa respiratoria, nitrito .....	87	<i>Bufo arenarum</i> , cadmium, arginase .....	7
Anfibios, Dieldrin, ovocitos, fertilidad .....	81	Cadmium, <i>Bufo arenarum</i> , arginase .....	7
Arginasa, cadmio, <i>Bufo arenarum</i> .....	7	Cellotape .....	2
Bifenilos polibromados .....	104	Chagas, climate .....	15
Bromuro de metilo .....	111	Chagas' vectors, meeting on .....	15
<i>Bufo arenarum</i> , cadmio, arginasa .....	7	Chemical carcinogens, detection, bioessays .....	75
Cadmio, <i>Bufo arenarum</i> , arginasa .....	7	Chemical risk, children, adolescence .....	11
Cancerígenas, substâncias, detecção, bioensaios .....	75	Cocaine, GC .....	77
Carcinógenos químicos, detección, bioensayos .....	75	Cocaethylene, GC .....	77
Carpa hervibora, tasa respiratoria, temperatura, amoníaco, nitrito .....	87	Comodoro Rivadavia, hospital, pediatric, poisoning .....	5
Clima, Chagas .....	15	<i>Crotalus durissus terrificus</i> , poisoning, rats .....	71
Cocaína, GC .....	77	Dieldrin, fertilization, oocytes, amphibians .....	81
Cocaetileno, GC .....	77	Ecological, protection .....	9
Comodoro Rivadavia, hospital, intoxicaciones .....	5	Ecuador, workers, protection, flowers .....	9
Consejos, idiomáticos .....	115	Editorial, notes .....	1-67
Criterio de salud ambiental (OMS) N° 152 .....	104	Environmental health criteria (WHO) N° 152 .....	104
Criterio de salud ambiental (OMS) N° 157 .....	102	Environmental health criteria (WHO) N° 157 .....	102
Criterio de salud ambiental (OMS) N° 166 .....	111	Environmental health criteria (WHO) N° 166 .....	111
<i>Crotalus durissus terrificus</i> , intoxicación, ratas .....	71	Erythrosine, toxicity .....	68
Chagas, vectores, reunión .....	15	Erythrosine, Wistar rat, mitochondria, respiration .....	68
Dieldrin, fertilidad, ovocitos, anfibios .....	81	Ethyl acetate .....	2
Ecología, protección .....	9	Expired insecticides, employ .....	84
Ecuador, trabajadores, protección .....	9	Flowers, workers, protection .....	9
Editorial .....	1-67	Grass carp, respiratory rate, temperature, ammonium, nitrite .....	87
Eritrosina, rata Wistar, mitocondria .....	68	Hepatic, mitochondria, respiration, erythrosine .....	68
Flores, trabajadores, protección .....	9	n-Hexane .....	2
Hidroquinona .....	102	Hydroquinone .....	102
Hígado, respiración, mitocondria, eritrosina .....	68	Idiomatic advices .....	115
n-Hexano .....	2	XVII Meeting of Toxicology. Lectures, abstracts .....	91
Infancia, adolescencia, riesgo químico .....	11	Methyl bromide .....	111
Insecticidas, vencidos, uso .....	84	Pediatric department, poisoning, statistics, hospital .....	5
Intoxicaciones, hospital, pediatría .....	5	Polybrominated byphenyls .....	104
XVII Jornadas Interdisciplinarias de Toxicología. Mesas redondas, comunicaciones libres .....	91	Rat, <i>Crotalus</i> venom .....	71
Nitrito, carpa hervibora, temperatura, tasa respiratoria, amoniaco .....	87	Regulations in Toxicology .....	1
Normalización, toxicología .....	1	Risk, chemical, children, adolescence .....	11
Ocupacional, exposición .....	2	Toluene .....	2
Ocupacional, protección .....	9	Toxicity, erythrosine .....	68
Pediatría, intoxicaciones .....	5	Venom, rattle-snake, <i>Crotalus durissus terrificus</i> .....	71
Rata, intoxicación, veneno, <i>Crotalus</i> .....	71	Veterinary toxicology .....	67
Rata Wistar, respiración, mitocondria, eritrosina .....	68	Weather, Chagas' vectors .....	15
Riesgo químico, infancia, adolescencia .....	11	Wistar rat, erythrosine, mitochondria, respiration .....	68
Tolueno .....	2		
Toxicidad, eritrosina .....	68		
Toxicología, regulatoria .....	1		
Toxicología, veterinaria .....	67		
Veneno, vibora de cascabel, <i>Crotalus</i> .....	71		

### AGRADECIMIENTOS / ACKNOWLEDGEMENTS

El comité Editorial agradece a los siguientes profesionales por su actuación como revisores de los trabajos publicados.  
**Nelson Albiano, Estela Gimenez, María del Carmen Tortorelli, Miguel D'Aquino, Edda C. Villaamil, Antonio Colombi, Esteban Lavilla, José Luis Lorenzo, Alfredo Salibrán, Daniel Mirson, Ofelia A. De Perez.**

## Acta Toxicológica Argentina

Instrucciones para los autores de contribuciones para la revista

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

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

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

- página 1: título, subtítulo nombres completos del o de los autores, laboratorio o institución donde se realizó el trabajo, dirección postal completa, incluyendo código postal, teléfono y fax, autor al cual debe dirigirse toda la correspondencia.
- página 2: título de trabajo en castellano y en inglés resúmenes de hasta 250 palabras en castellano y en inglés. tres-cuatro palabras clave en castellano, portugués e inglés.
- página 3 en adelante: Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión, Bibliografía citada, Leyendas de Ilustraciones y Tablas con leyenda.

La extensión máxima de estos aportes no deberá superar las 8 (ocho) páginas. El texto deberá ser escrito en PC, en papel tamaño A4, a doble espacio, con márgenes superior, inferior e izquierdo de 4 cm. Se deberán enviar 3 juegos. Conjuntamente con las 3 copias del manuscrito, los autores deberán remitir una versión en disquete de 3 1/2" utilizando alguno de los siguientes procesadores de texto: Word for MS-DOS; WORD for MACINTOSH; WORD PERFECT for DOS, indicando programa y versión usados. En el caso que los revisores recomienden la revisión del trabajo, la nueva versión deberá enviarse en disquete y tres copias impresas.

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

Las revisiones, actualizaciones y temas de divulgación deberán ser lo más concisas posible y su extensión no excederá de 6 (seis) páginas. Su redacción deberá considerar lectores con formación científica pero ajenos o alejados del tema. Se considerarán preferentemente las revisiones solicitadas por el Comité Editorial. Los comentarios bibliográficos serán contribuciones solicitadas por el Director. El autor deberá emitir una opinión fundamentada del trabajo sometido a su consideración. Además deberá incluir la siguiente información: título en idioma original, autor/es, edición considerada, traductor, editorial y asiento de la misma, tomo o volumen, número de páginas y año de edición. Se indicará claramente nombre del comentarista, institución a la que pertenece y domicilio completo. El texto no podrá ocupar más que 2 (dos) páginas.

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

Las cartas al editor serán textos de una extensión no mayor de 200 palabras y revestirán el carácter de correspondencia científica referida a textos publicados con anterioridad. El o los autores serán debidamente indicados.

Se solicita a los autores que tengan en cuenta las siguientes normas al preparar sus manuscritos:

- en todos los casos se deberá consignar en el ángulo superior derecho de cada hoja el apellido del autor o del primer autor y el número correlativo que corresponda, incluidas las páginas con Tablas.
- en el caso de sustancias químicas se tomará como referencia prioritaria a las normas de la IUPAC.
- los organismos se denominarán conforme a las normas internacionales, indicando sin abreviaturas el género y la especie en itálicas o subrayados.
- las ilustraciones (fotografías, gráficos) deben ser confeccionadas sobre materiales de alta calidad, con técnicas que permitan su reproducción sin tratamientos especiales. Es aconsejable que este material tenga las dimensiones de la caja de *Acta Toxicológica Argentina*; los autores deben tener presente que en los casos de ilustraciones en las que sea necesario proceder a su reducción el tamaño de las letras, números y demás elementos de las mismas deben tener dimensiones mayores para que la nitidez no se vea afectada luego de la impresión.

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

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

- las tablas y sus leyendas se presentarán en forma individual, en hojas aparte, identificadas mediante numeración arábiga conforme al orden en que aparecen en el texto. La ubicación preferente de la tabla en el texto se indicará mediante una flecha. Las tablas se ubicarán al final de cada manuscrito.

- las citas bibliográficas en el texto se indicarán mediante números correlativos, por orden de aparición, entre paréntesis: por ejemplo. "La separación de las isoenzimas se hizo por electroforesis de acuerdo a la técnica de Dietz y Lubrano (4)".

En el caso de citar artículos de más de dos autores, se indicará el apellido del primero seguido de la expresión et al.: "Castañe et al. (5) fueron los primeros en..."

- las referencias bibliográficas serán agrupadas bajo el acápite "Bibliografía citada"; la lista se ordenará conforme a los números asignados.

El formato de las citas es el siguiente:

artículo en publicación periódica:

"Malla Reddy, P. and M. Bashamohideen (1989). Fenvalerate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. *Acta hydrochim. hydrobio.* 17 (1), 101-107." libro:

"Dix, H.M. (1981), *Environmental pollution*. John Wiley & Sons, New York, 286 pp."

Las abreviaturas de la de nominación de las revistas serán las que ellas mismas indican en su texto.

- cualquier modificación excepcional de las normas estipuladas que los autores soliciten será considerada por el Director.
- las pruebas de galera se enviarán al autor indicado como receptor de la correspondencia. Las mismas serán revisadas y devueltas dentro de las 48 horas de recibidas.
- el autor indicado recibirá 10 separatas sin cargo. El excedente solicitado sobre esa cantidad será costado por el/los autores: la cantidad solicitada deberá ser indicada al Editor en el momento de devolver las pruebas de galera.

Toda la correspondencia referida al **Acta Toxicológica Argentina** deberá ser dirigida al Comité Editorial, Alsina 1441, Of. 302 - (1088) Buenos Aires, Argentina

Telefax: ++54-11-4381-6919.

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

## Acta Toxicológica Argentina

### Instructions to authors

**Acta Toxicológica Argentina** (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 03279286) is the official journal of the Asociación Toxicológica Argentina (Argentine Toxicological Association) for scientific dissemination.

**Acta Toxicológica Argentina** (herein below, ATA) is basically aimed at publishing original full-length papers, short communications, reports on research in progress or review papers, topics of interest to workers in Toxicology, book reviews, technical communications as well as letters to the Editor. News relevant to the different fields of Toxicology will also be published.

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

- Page 1: Title, and subtitle of paper. Authors' full names; academic or professional affiliation, and complete name of the laboratory or institution, research involved has been conducted at. Complete address (city, State or Province, zip code, country, phone number and fax number).

The name and address of the author to whom correspondence is to be sent should be given.

- Page 2: Title of paper, in Spanish and in English. A 250-word summary in both Spanish and English. A list of three or four key words in Spanish, Portuguese, and English should be included.

- Page 3 onward: As a rule full length papers should be divided into sections headed by a caption: Introduction, Materials and Methods Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgments, References, captions of figures, and caption of tables.

Full-length papers should not exceed eight pages. Text is to be typed with PC, on A4 paper, in double-spaced typing with at least 4 cm upper lower, and left margin. Typescripts should be submitted in triplicate Besides the 3 printouts of the manuscript, authors are requested to submit the paper on diskette (3 1/2") made in one of the next word processing systems: Word for MS-DOS; WORD for MACINTOSH; WORD PERFECT for DOS indicating the program and version used. Revised versions of the paper, because of referee's recommendations, should always be accompanied by a new diskette and 3 printouts of the manuscript. Short communications should adhere to a similar format.

However short communications should contain no section headings. No Spanish summary is required but text is supposed to contain, in a concise way, every information relevant to the above mentioned headings (Introduction, Materials and Methods, etc.) Short communications should not exceed three pages. Review papers, updates, and reports on research in progress should be as concise as can be. Such articles should not exceed three pages. Their wording should address a scientifically educated readership that, however, can be unfamiliar with topics involved. Review papers, updates, and reports on research in progress previously requested to authors by the Editorial Board will be privileged. Book reviews should have been requested to authors by the Editor. Authors should sustain their contention on the book submitted to their attention. Besides, authors of any book review should submit the following information: Title of the book in its original language, full names of authors or editors of the book, edition number of the book, translator's name if any, publisher's full name, city, volume number if any, number of pages, and publishing year.

The full name and academic or professional affiliation of the author of any book review should be stated clearly. No book review should exceed two pages.

Technical communications should refer exclusively to modifications in scientific methods, determinations of errors committed in scientific methods, etc. Technical communications should not exceed two pages. At the end of a communication, authors' full name and particulars should be clearly stated.

Letters to the Editor should not exceed 200 words: Letters are a scientific correspondence referred to previously published manuscripts. Author or authors of a letter to the Editor should be clearly identified. When submitting a full-length paper, authors should take the following recommendations into account:

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

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

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

Illustrations should also be sent in triplicate (one original, and two copies).

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

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

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

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

When referring to an article written by more than one author, the last name (surname) of the first author will be followed by "et al." For example: "Castañé et al. (5) have been the first researchers in..."

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

- A paper published in a journal

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

- A book Dix H.M. (1981) Environmental pollution. John Wiley & Sons, New York, p. 286.

A bridged name of journals should be the abridged name that a journal uses.

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

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

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

Should author or authors request extra offprints, a charge will be levied.

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

**Acta Toxicológica Argentina** - Comité Editorial - Alsina 1441, Of. 302 (1088) Buenos Aires - Argentina.

Telefax ++54-11-4381-6919.

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

## Acta Toxicológica Argentina

Instruções para os autores de contribuições para a revista.

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

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

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

- página 1: título, subtítulo nomes completos do ou dos autores, laboratório ou instituição onde se realizou o trabalho; endereço postal completo, incluindo código postal, telefone e fax; autor ao qual toda a correspondência deverá ser dirigida.
- página 2: título do trabalho em espanhol e em inglês; resumos de até 250 palavras, em espanhol e em inglês. três, quatro palavras-chaves em espanhol, português e em inglês.
- página 3 em seguida:  
Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão, Bibliografia indicada, Títulos de Ilustrações e Quadros com legendas. A extensão máxima destes aportes não deverá superar 8 (oito) páginas. O texto deverá ser escrito com PC em papel tamanho A4 com espaço duplo, com margens superior, inferior e esquerda de 4 cm. Deverão ser enviados 3 jogos.

Junto com as cópias do manuscrito, os autores deverão enviar uma versão em disquete (de 3 1/2"), em um dos seguintes processadores de texto: WORD for MS-DOS, WORD for MACINTOSH, WORD PERFECT for MS-DOS. Caso os revisores recomendem revisão do trabalho, a nova versão também deverá ser acompanhada de uma cópia em disquete e 3 jogos do texto em papel.

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

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

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

Os comentários bibliográficos serão contribuições solicitadas pelo Diretor.

O autor deverá emitir uma opinião fundamentada sobre o trabalho submetido à sua consideração. Além disso, deverá incluir a seguinte informação: título em idioma original, autores, edição considerada, tradutor, editorial e respectivo lugar, o livro ou volume, número de páginas e ano da edição. Será claramente indicado o nome do comentarista, instituição à qual pertence e endereço completo. O texto não poderá ocupar mais que 2 (duas) páginas.

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

As cartas do editor serão textos de extensão não superior a 200

palavras e terão o caráter de correspondência científica relacionada com textos publicados anteriormente. Autor ou autores serão devidamente indicados.

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

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

Artigo em publicação periódica:

"Malla Reddy, P. and M. Bashamohideen (1989). Fenvalerate and epermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. Acta hydrochim. hydrobio. 17(1), 101-107." livro:

"Dix, H.M. (1981), Environmental pollution. John Wiley & Sons, New York, 286 pp."

As abreviações do nome das revistas serão as que elas mesmas indiquem no texto.

- qualquer modificação excepcional das normas estipuladas que os autores solicitarem será considerada pelo Diretor.
- as provas de impressão serão enviadas ao autor indicado como receptor da correspondência. As mesmas serão revistas e devolvidas dentro de 48 horas após recebidas.
- o autor indicado receberá 10 separatas sem despesa. O excedente solicitado sobre essa quantidade será custeado por ele ou demais autores; a quantidade solicitada deverá ser comunicada ao Editor no momento de devolver as provas de impressão.

Toda a correspondência relativa à **Acta Toxicológica Argentina** deverá ser dirigida ao Comité Editorial, Alsina 1441, Of. 302 - (1088) Buenos Aires, Argentina. Telefax: ++54-11-4381-6919. Solicita-se troca com outras publicações tematicamente afins com a **Acta Toxicológica Argentina**.