

Acta Toxicológica Argentina

Publicación de la Asociación Toxicológica Argentina
Buenos Aires - Argentina



Asociación Toxicológica Argentina

Volumen 25
N° 1
Mayo 2017

Acta Toxicologica Argentina es el organo oficial de difusion cientifica de la Asociacion Toxicologica Argentina. Tiene por objetivo la publicacion de trabajos relacionados con las diferentes areas de la Toxicologia, en formato de articulos originales, reportes de casos, comunicaciones breves, actualizaciones o revisiones, articulos de divulgacion, notas tecnicas, resúmenes de tesis, imagenes, cartas al editor y noticias.

Acta Toxicologica Argentina integra el Nucleo Basico de Revistas Cientificas Argentinas y se puede acceder a sus articulos a texto completo a traves del Portal de Revistas Cientificas y Tecnicas argentinas (PPCT) y a traves de la Scientific Electronic Library Online (SciELO) Argentina.

Se encuentra indexada en los siguientes directorios:

Biblioteca Virtual en Salud
Chemical Abstract Service
Directory of Open Access Journals
Directory of Open Access Resources
Latindex



Asociación Toxicológica Argentina

Asociación civil (Personería Jurídica N° 331/90)

Adherida a la IUTOX

*Acta
Toxicológica
Argentina*

Asociación Toxicológica Argentina

Comisión directiva

Presidente

Susana Isabel García

Vicepresidente

Mirtha Nassetta

Tesorero

Augusto Piazza

Secretaria

Edda Cristina Villaamil Lepori

Vocales

Adriana Inés Haas

Adolfo Rafael de Roodt

Gabriela Fiorenza Biancucci

Vocales suplentes

Aldo Sergio Saracco

Adriana Ángela Pérez

Diana Mary González

Comité científico

Nélide Cristina Rubio

Silvia Cristina Cortese

María Graciela Bovi Mitre

Ricardo Antonio Fernández

Adriana Silvia Ridolfi

Órgano de fiscalización

Mirta E. Ryczel

Jorge Rubén Zavatti

Daniel Armando Méndez

Tribunal de honor

José A. Castro

María Rosa Llorens

Jorge Scagnetti

Acta Toxicológica Argentina

Director

Adolfo R. de Roodt, *Fac. Medicina, UBA; MSAL de la Nación*

Comité de redacción

Ricardo A. Fernández, *Htal. Infantil Municipal, Fac. Medicina, Univ Católica de Córdoba*

Susana I. García, *Fac. Medicina, UBA; Prog. Nac. Prev. y Control de las Intoxicaciones (PRECOTOX), MSAL de la Nación*

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

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

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

Comité de apoyo

Gabriela Fiorenza Biancucci, *Fac. Medicina, Univ. Nac. del Litoral*

Patricia N. Quiroga, *Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA*

Vanessa Oliveira, *Prog. Nac. Control Enf. Zoonóticas, MSAL de la Nación*

Comité editorial

Alejandro Alagón, *Universidad Autónoma de México, México*

Arturo Anadón Navarro, *Universidad Complutense de Madrid, España*

José A. Castro, *Instituto de Investigaciones Científicas y Técnicas para la Defensa (CITEDEF, exCITEFA), CONICET, Argentina*

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

Heraldo N. Donnenwald, *Universidad Favaloro, Argentina*

Gina E. D'Suze García, *Inst. Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Venezuela*

Veniero Gambaro, *Università di Milano, Italia*

Estela Giménez[†], *Universidad de Buenos Aires, Argentina*

Amalia Laborde, *Universidad de la República, Uruguay*

Bruno Lomonte, *Instituto Clodomiro Picado, Costa Rica*

Nelly Mañay, *Universidad de la República, Uruguay*

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

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

Haydée N. Pizarro, *CONICET, Argentina*

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

María M. Salseduc, *Laboratorios Bagó, Argentina*

Carlos Sèvcik, *Inst. Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Venezuela*

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

Miguel Ángel Sogorb Sánchez, *Universidad Miguel Hernández, España*

Norma Vallejo, *Secretaría de Políticas Integrales sobre Drogas de la Nación Argentina (SEDRONAR), Argentina*

Eugenio Vilanova Gisbert, *Universidad Miguel Hernández, España*

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

Eduardo N. Zerba, *Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN) CITEDEF (exCITEFA), CONICET, Argentina*

INDICE
(CONTENTS)

Artículos originales

Genotoxicidad de los hidrocarburos aromáticos policíclicos extraídos mediante el sistema diclorometano-etanol-tolueno en muestras del aire de Cúcuta, Norte de Santander, Colombia
Quijano Parra, Alfonso, Quijano Vargas, Mónica Juliana, Meléndez Gélvez, Iván 1

Escorpiones y escorpionismo en la provincia de Jujuy
Ojeda, Marta A.; Neder de Román, Lilia E. 12

Imágenes en Toxicología

Particulate matter inside of the alveolar macrophage
Falcon-Rodríguez, Carlos Ivan; García-Alonso, Larisa Idania; Segura-Medina, Patricia 23

Resúmenes de tesis

Aislamiento y caracterización de la miotoxina I del complejo *Bothrops neuwiedi* (yarára chica)
Geoghegan, Patricia Andrea 26

Instrucciones para los autores 27

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

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

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

ARTÍCULOS ORIGINALES

Genotoxicidad de los hidrocarburos aromáticos policíclicos extraídos mediante el sistema diclorometano-etanol-tolueno en muestras del aire de Cúcuta, Norte de Santander, Colombia

Genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons extracted by dichloromethane-ethanol-toluene system air samples from Cúcuta, Norte de Santander, Colombia

Quijano Parra, Alfonso^{1*}, Quijano Vargas, Mónica Juliana¹, Meléndez Gélvez, Iván²

¹Grupo de Investigación en Química. Departamento de Química. Laboratorio de Control de Calidad. Km 1 vía Bucaramanga, sector El Buque. Pamplona-Colombia. Universidad de Pamplona. ²Grupo de Investigación en Biología Molecular- Biomogen. Departamento de Biología. Universidad de Pamplona.

*alfonsoquijanoparra@gmail.com

Recibido: 14 de abril de 2016

Aceptado: 13 de diciembre de 2016

Resumen. Los contaminantes del aire han sido y siguen siendo, los principales factores que contribuyen a las enfermedades crónicas como el asma y enfermedades cardiovasculares. La contaminación del aire por material particulado (PM) es un problema mundial y en los últimos años, el PM se ha convertido en un tema importante de investigación ya que tiene un impacto negativo significativo en la salud humana; el PM es generado por las actividades industriales y tubos de escape de vehículos de motor. Sin embargo, diversos componentes nocivos del PM, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en general, son sospechosos de ser carcinogénicos. Este trabajo tiene como objetivo identificar los HAP presentes en el PM_{2.5} del aire de Cúcuta, extraídos por primera vez, mediante el sistema diclorometano-etanol-tolueno e investigar la importancia del fraccionamiento de la materia orgánica del PM_{2.5} para detectar los HAP presentes en las fracciones del PM_{2.5}. La identificación de los HAP considerados como contaminantes prioritarios y reconocidos por su afectación a la salud de la población se realizó, mediante cromatografía de gases con detector FID. Los efectos genotóxicos de la materia orgánica del PM_{2.5} extraída con una mezcla de DCM-etanol-tolueno fueron evaluados mediante el ensayo Cometa.

Palabras clave: Ensayo cometa; Fraccionamiento del PM_{2.5}; Benzo[a]antraceno; Benzo[b,k]fluorantenos.

Abstract. Air pollutants have been and still are the main factors that contribute to chronic diseases such as asthma and cardiovascular disease. Air pollution by particulate matter (PM) is a global problem and in recent years, the PM has become an important research topic since it has a significant negative impact on human health; the PM is generated by industrial activities and exhaust pipes of motor vehicles. However, various harmful components of PM such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in general, are suspected of being carcinogenic. This work aims to identify the PAHs present in the PM_{2.5} air Cúcuta, first extracted by the dichloromethane-ethanol-toluene system and investigate the importance of organic matter fractionation of PM_{2.5} to detect PAHs present in the fractions of PM_{2.5}. The identification of PAHs considered as priority pollutants and recognized for their effects on health of the population was performed by gas chromatography with FID detector. The genotoxic effects of PM_{2.5} organic matter, extracted with a mixture of DCM-ethanol-toluene, was evaluated by the Comet assay.

Keywords: Comet assay; Fractionation of PM_{2.5}; Benzo[a]anthracene; Benzo[b,k]fluoranthenes.

Introducción

En los últimos años se han hecho esfuerzos especiales en el mundo, con el objetivo de reducir la contaminación atmosférica y los efectos adversos de los contaminantes atmosféricos. La contaminación de origen in-

dustrial o el tráfico de vehículos son muy importantes, porque su volumen aumenta cada año (European Environmental Agency 2004). Algunos contaminantes como los óxidos de nitrógeno (NOx), monóxido de carbono (CO)

y el material particulado (PM) que contiene hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y metales pesados (Muránszky y col. 2011) se emiten a la atmósfera en grandes cantidades, provocando disminución significativa de la calidad del aire (EEA 2008). Estos contaminantes representan un grave riesgo para la salud humana, se estima que en Europa miles de muertes prematuras se atribuyen cada año a la mala calidad del aire (Kunzli y col. 2000). En los humanos, la inhalación es la ruta más frecuente de acceso de los contaminantes atmosféricos al organismo, es por esto que el tracto respiratorio y los pulmones están generalmente involucrados en los procesos de translocación del agente nocivo por la sangre y los tejidos (Halatek y col. 2005), estos contaminantes pueden causar efectos pulmonares y sistémicos que incluyen inflamación y carcinogénesis (Dagouassat y col. 2012). El PM se origina a partir de una multitud de fuentes, que pueden ser naturales o de origen antropogénico (Querol y col. 2004). La contaminación del aire por material particulado (PM) se considera un serio problema ambiental debido a la presencia en la atmósfera de metales traza tóxicos (Shah y col. 2006) que aumentan las lesiones cardiopulmonares en los seres humanos (Shaheen y col. 2005). El componente del PM se subdivide en función del tamaño de la partícula, en partículas torácicas (PM_{10} , con un diámetro aerodinámico medio <10 micras), partículas finas ($PM_{2,5}$, $<2,5$ micras) y las partículas ultrafinas (UFP, $<0,1$ micras). El PM fracción respirable conocido como PM_{10} y $PM_{2,5}$, tiene la capacidad de penetrar y depositarse en las regiones traqueo-bronquial y alveolar del tracto respiratorio (Vinitketkumnuen y col. 2002). Aunque el PM es uno de los contaminantes más peligrosos para la salud y está siendo ampliamente estudiado (Khan y col. 2010; Khare y Baruah 2010; Massoud y col. 2011; Xu y col. 2012), aún no es claro si se trata de sus características físicas es decir el tamaño o los parámetros químicos los principales responsables de los efectos sobre la salud. Sin embargo, diversos componentes nocivos del PM como metales pesados, que a menudo se derivan de las mismas fuentes que los HAP (Maliszewska-Kordybach y Smreczak 2003), pueden contribuir o incluso potenciar los respectivos efectos adversos para la salud (Directive 2004/107/CE). Los HAP son contaminantes ambientales ubicuos y son bien conocidos

por su mutagenicidad y carcinogenicidad (Lee y col. 1981; Boström y col. 2002). Los HAP son moléculas orgánicas compuestas por dos o más anillos aromáticos fusionados, su producción se ve favorecida por una combustión con deficiencia de oxígeno y combustibles que no están altamente oxidados, provenientes de incendios forestales, emisiones volcánicas, quema de combustibles fósiles, desechos industriales (Boonyatumanond y col. 2007; Orecchio y Papuzza 2009). Los impactos en la salud y medioambientales del transporte vehicular es hoy en día uno de los temas más discutidos (Beelen y col. 2008; Douglas y col. 2011). El transporte vehicular es una de las más importantes fuentes de emisiones antropogénicas en zonas urbanas que contribuyen en un 60% de las emisiones totales de HAP (Omar y col. 2002; Hanedar y col. 2011). Algunos investigadores han demostrado que los escapes de los motores de los vehículos son probablemente la fuente más importante de HAP actualmente detectada (Fang y col. 2004; Culotta y col. 2005). Los procesos de combustión se han señalado como una de las fuentes más importantes de HAP a la atmósfera (Manoli y col. 2005). Una vez producidos, los HAP se pueden dispersar ampliamente a través del medio ambiente en el aire, agua y pueden acumularse en los suelos (Maliszewska-Kordybach y Terelak 2000; Maliszewska-Kordybach y Smreczak 2003) y sedimentos (Giacalone y col. 2004; Culotta y col. 2006). Varios estudios han demostrado (Lu y Chen 2008; Slezáková y col. 2011) que los HAP especialmente dañinos con 5-6 anillos aromáticos se encuentran predominantemente en las partículas (PM), en su mayoría debido a su alto peso molecular y baja volatilidad. Los HAP pueden crear toxicidad en organismos, al interferir con la función de la membrana celular y los sistemas de acoplamiento de enzimas, los metabolitos de HAP se pueden unir al ADN causando interrupciones bioquímicas y daño celular a los organismos (Gozgit y col. 2004; de Kok y col. 2006; Kosmehl y col. 2008). Muchos de los HAP individuales son citotóxicos, mutagénicos y potencialmente carcinógenos para los seres humanos (IARC 2002;2010); su carcinogenicidad es probablemente mediada por su capacidad de dañar el ADN (Novotna y col. 2007). La Agencia de Protección Ambiental de EE.UU. (USEPA) recomienda el monitoreo de ciertos HAP

conocidos como contaminantes prioritarios (USEPA 1986; Shibamoto 1998); según la clasificación de la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC 2010), encontramos que el benzo[a]pireno está clasificado en el grupo 1 como carcinógeno para humanos; el criseno, naftaleno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]antraceno, indeno[1,2,3-cd]pireno se clasifican en el grupo 2B como posiblemente carcinogénico para humanos; el dibenzo[a,h]antraceno se clasifica en el grupo 2A como probablemente carcinogénico para humanos (IARC 2002). Incluso la normativa europea actual para el aire ambiente (Directiva 2004/10/CE) utiliza al benzo[a]pireno como indicador de partículas HAP cancerígenas. Sin embargo, la idoneidad de este enfoque comenzó a ser cuestionado (Pufulete y col. 2004) por los nuevos hallazgos sobre la presencia de otros HAP más potentes, tales como dibenzo[a,l]pireno y dibenzo[a]antraceno (Okona-Mensah y col. 2005).

En Colombia se han realizado varios estudios sobre el PM y su composición, entre los cuales podemos mencionar las investigaciones de Pachón y col. (2004); Consuegra (2006); Vargas y Rojas (2010); Arciniégas (2012).

Teniendo en cuenta que la combustión vehicular es una de las más relevantes fuentes de emisiones atmosféricas, este trabajo tiene como objetivo identificar los HAP considerados por la US-EPA como contaminantes prioritarios en el marco del control de la calidad del medio ambiente, presentes en el $PM_{2.5}$ del aire de Cúcuta, Colombia y evaluar el riesgo para la salud mediante el ensayo genotóxico conocido como ensayo cometa.

Materiales y métodos

Muestreo

EL monitoreo del $PM_{2.5}$ se realizó con un equipo Partisol- Plus Model 2025-Air sampler. U.S.EPA. *Reference designated $PM_{2.5}$ Method* RFPS 0498-118 *in accordance with* 40CFR Part 53 de la Ruprecht-Patashnick. Se utilizaron filtros de teflón de 47 mm de diámetro con un tamaño de poro de 2 micras.

Sitio de muestreo

Se realizó el monitoreo de la fracción respirable $PM_{2.5}$ en el Cread de la Universidad de Pamplona, ubicado en la diagonal Santander en Cúcuta-Norte de Santander ubicada en la cordillera Oriental de los Andes, con coordena-

nadas geográficas $7^{\circ} 54'$ de latitud norte y $72^{\circ} 30'$ al oeste de Greenwich, a una altitud de 320 msnm. Las muestras ambientales obtenidas con el Partisol 2025 Plus en muestreos de 24 horas, cada tres días se realizaron durante el período comprendido entre julio y diciembre del 2012. Se seleccionó este sitio de muestreo de la fracción respirable $PM_{2.5}$ por sus características particulares, ya que está ubicado en un sector residencial y en una vía que presenta un alto flujo vehicular. En este sector no existen industrias contaminantes y la única fuente de contaminación atmosférica son los vehículos que circulan por este sitio. Por consiguiente, el análisis fisicoquímico de los filtros dará una idea de la magnitud de la contaminación atmosférica producida básicamente por la combustión vehicular.

Extracción de la materia orgánica de los filtros de $PM_{2.5}$ de Cúcuta

La materia orgánica de los filtros de $PM_{2.5}$ (HAP) se extrajo por ultrasonido en un baño ultrasónico (Branson 1510, modelo 1510R-MT); se utilizó como solvente de extracción el sistema compuesto por diclorometano-etanol-tolueno, el volumen utilizado de solvente fue 200 mL. Los filtros de $PM_{2.5}$ provenientes del monitoreo diario se colocaron en un vaso de precipitado inicialmente con 20 mL del solvente por un periodo de 15 minutos a una temperatura de $23^{\circ}C$ - $24^{\circ}C$, terminado este tiempo se depositaron los 20 mL en un vaso de precipitado de 250 mL; de nuevo se colocaron 20 mL del solvente y se repitió la extracción hasta completar los 200 mL del solvente. Un procedimiento común para el análisis de los HAP consiste en la extracción seguido por el análisis instrumental, como la cromatografía de gases o la cromatografía líquida (Ping y Panuwat 2006).

Concentración de la materia orgánica

Una vez extraída la materia orgánica de los filtros de $PM_{2.5}$ se concentró en un rota- evaporador hasta aproximadamente 15 mL obteniéndose de esta manera el extracto global. Posteriormente el extracto global se transfirió a tres viales cada uno de 5 mL, para la determinación de HAP por cromatografía de gases; para el fraccionamiento mediante columna de separación de silicagel y para los ensayos genotóxicos. Las muestras de HAP se secaron con Na_2SO_4 , con el fin de eliminar el agua residual y preparar la muestra para el análisis cro-

matográfico. Se guardaron en frasco ámbar, manteniéndolas refrigeradas a 4 °C.

Fraccionamiento del extracto global de la materia orgánica del PM_{2.5}

Se utilizó para el fraccionamiento del extracto global una columna de silicagel (Yang y col. 2010). La sílica tuvo un tratamiento térmico de ocho días a 170 °C y durante dos días de 110 °C. Se colocó en una columna 10 g de sílica, se agregaron los 5 mL del extracto global al que se adicionaron 10 mL de hexano. Posteriormente a esta columna se agregaron 200 mL de hexano que eluyeron por la columna, obteniéndose la fracción 1 (F1). Obtenida esta fracción se agregaron 200 mL de una mezcla hexano-diclorometano (3:1) obteniéndose la fracción 2 (F2). Posteriormente, a la columna se agregaron 200 mL de diclorometano obteniéndose la fracción 3 (F3).

Identificación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP)

Para identificar los HAP presentes en el PM_{2.5} del aire de Cúcuta (extracto global y las tres fracciones), se utilizó un equipo de Cromatografía de Gases marca Agilent Technologies 6890A Plus Series II Hewlett-Packard Plus con detector FID (Flame Ionization Detector). La columna utilizada fue Restek Rxi-17 Sil MS, 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro, 0,25 µm de diámetro interno (*silarylene* similar a 50% *phenyl*/50% *dimethyl polysiloxane*). Para la identificación de los HAP se utilizó el patrón de 18 hidrocarburos de Restek (catalogo # 31841 EPA Method 8310 PAH Mixture). La identificación cualitativa de los HAP presentes en el extracto global se realizó de acuerdo a las siguientes condiciones: temperatura del inyector 250 °C, detector FID a 320 °C, mezcla (mL/min): aire 400, H₂ 30, N₂ 45. Se inyectó 1 µL, modo splitless a 320 °C. Condiciones del horno: Temperatura inicial 65 °C por 0,5 min y se incrementa de la siguiente manera: 15 °C/min hasta 200 °C, 4 °C/min hasta 330 °C durante 15 min. Tiempo de análisis por muestra 53,33 min. Gas de arrastre Helio, flujo 20 mL/min.

Detección del daño en el ADN

Ensayo cometa

El ensayo cometa es una técnica altamente sensible para evaluar el daño y la reparación del ADN en cualquier tipo de célula eucariota. Este en su versión alcalina, permite detectar rupturas sencillas en la cadena de ADN (Ayala

2004). En general el principio básico del ensayo, es la migración del ADN en una matriz de agarosa bajo condiciones de electroforesis. Luego, al ser observada la célula al microscopio, presenta la apariencia de un cometa, con una cabeza (región nuclear) y cola (formada por fragmentos nucleares que han migrado en dirección del ánodo) por lo que este ensayo es también conocido como ensayo Cometa, debido al patrón de migración del ADN que se produce en las células dañadas.

Extracción de linfocitos

La separación de linfocitos se realizó usando 5 mL de sangre total fresca de una persona sana. Para dicha separación se centrifugó durante 30 min a 2.300 rpm con Histopaque, luego se tomó la capa intermedia que es donde están los linfocitos.

Tratamiento

A 200 µL de células, se adicionaron 50 µL del tratamiento o control. Posteriormente se incubaron estas dosis y controles durante 1 hora a 37 °C. Se tomaron 75 µL agarosa de punto de fusión bajo (LMA) y se mezclaron con 10 µL de células tratadas. Seguidamente la mezcla se adicionó a una lámina de vidrio impregnada con agarosa, después se llevó a incubación durante 6 min a 4 °C. Luego se retiró el cubre objeto y se adicionaron otra capa de agarosa, se incubó durante 6 min a 4 °C. Terminado este tiempo se quitó el cubre objeto y se incubó durante 1 h a 4 °C en solución de trabajo de lisis. A continuación se lavaron las placas con BFS y se colocaron en una cámara de electroforesis durante 30 min sin conectar a la fuente. Posteriormente se conectó la cámara durante 30 min a 300 amperios. Culminado el tiempo se procedió a retirar de la cámara las placas; las cuales se lavaron con solución neutralizante. Se dejaron secar e inmediatamente se adicionaron 30 µL de bromuro de etidio. Luego se observaron en el microscopio de fluorescencia Olympus U-RFKT50 con el objetivo de 25X y se midió la migración del ADN de 200 células. Se determinó la genotoxicidad de tres fracciones F1 (hexano), F2 (hexano-diclorometano) y F3 (diclorometano). Las concentraciones que se trabajaron en el ensayo cometa fueron: D1=12,5 µg, D2=25 µg y D3=50 µg. Para el control positivo se utilizó H₂O₂ 25 mM y para el control negativo buffer fosfato salino (BFS). Para determinar el daño causado por las frac-

ciones en el ADN de los linfocitos se establecieron cuatro rangos, de 1-50 μ = poco daño, de 51-100 μ = daño medio, de 101-150 μ = daño moderado y >151 μ = daño alto. Se realizaron tres ensayos, cada uno por duplicado.

Análisis estadístico

Se determinó homogeneidad de varianzas usando la prueba de Levene. Si el comportamiento de los datos fue paramétrico, se aplicó análisis de varianza (ANOVA). Si los datos fueron no paramétricos se utilizaron las pruebas de Mann-Whitney y Wilcoxon. Se utilizó la prueba de Dunnett para determinar el nivel de significancia entre el tratamiento y control, así como la prueba de Tukey para comparaciones múltiples. Los valores se expresan como la media \pm la desviación estándar ($X \pm DS$) y las pruebas se consideraron significativas con una $p \leq 0,05$.

Resultados y discusión

Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) por Cromatografía de Gases/FID con la columna Restek RXI 17 Sil MX
Para la identificación de los diferentes HAP presentes en el extracto global del PM_{2.5} de Cúcuta, se tomó como referencia el cromatograma de la muestra patrón de 18 HAP (EPA Method 8310 PAH Mix) como se muestra en la figura 1.

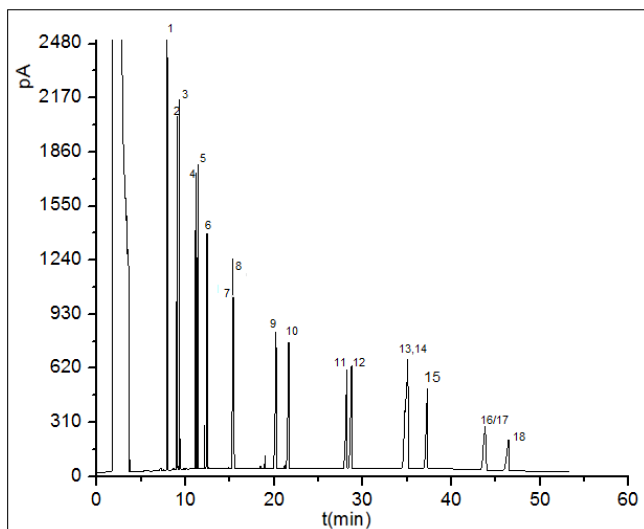


Figura 1. Cromatograma del patrón de 18 HAP Restek 8310 Mix.

En este cromatograma, los compuestos presentes en la muestra patrón EPA Method 8310 HAP mix fueron: 1) naftaleno, 2) 1-metilnaftaleno, 3) 2-metilnaftaleno, 4) acenaftileno, 5) acenafteno, 6) fluoreno, 7) fenantreno, 8) antraceno, 9) fluoranteno, 10) pireno, 11) benzo[a]antraceno, 12) criseno, 13) benzo[b]fluoranteno, 14) benzo[k]fluoranteno, 15) benzo[a]pireno, 16) indeno[1,2,3-cd]pireno, 17) dibenzo[a,h]antraceno, 18) benzo[ghi]perileno.

En la figura 2 se muestran los HAP encontrados en el extracto global de la materia orgánica PM_{2.5} del aire de Cúcuta; como se observa en este cromatograma los HAP encontrados fueron: 1) naftaleno; 3) 2-metilnaftaleno; 7) fenantreno; 8) antraceno; 16) indeno[1,2,3-c-d]pireno; 17) dibenzo[a,h]antraceno.

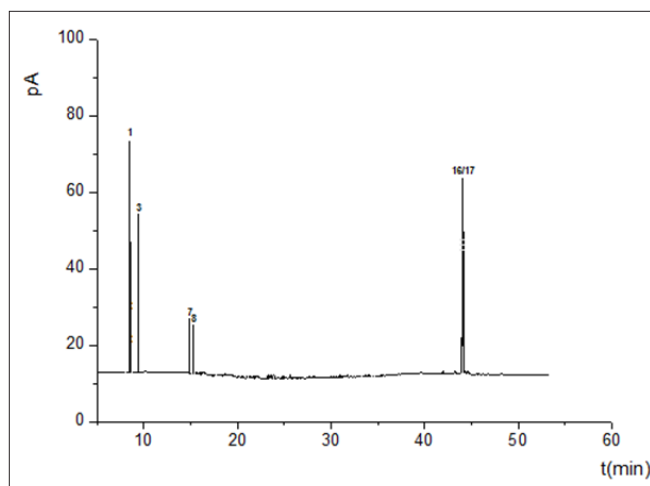


Figura 2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) extraídos con el sistema diclorometano-etanol-tolueno del PM_{2.5} del aire de Cúcuta (extracto global).

Los HAP encontrados en la fracción 1 del PM_{2.5} del aire de Cúcuta (figura 3) fueron: 4) acenaftileno; 8) antraceno; 11) benzo[a]antraceno; 12) criseno; 13) benzo[b]fluoranteno; 14) benzo[k]fluoranteno; 15) benzo[a]pireno; 16) indeno[1,2,3-cd]pireno; 17) dibenzo[a,h]antraceno.

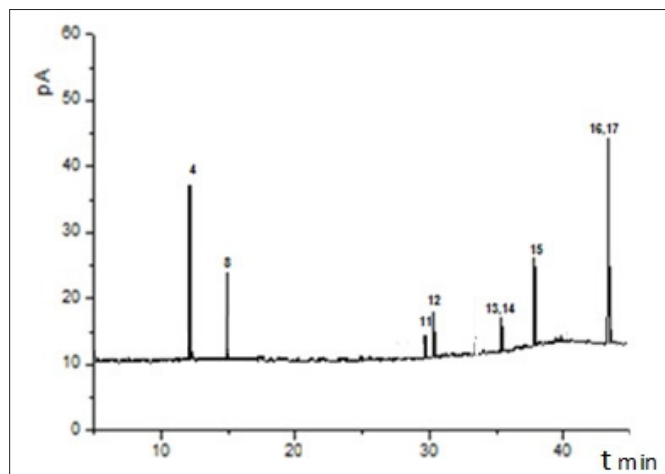


Figura 3. HAP encontrados en la fracción 1 del PM_{2.5} del aire de Cúcuta.

En la fracción 2 del PM_{2.5} del aire de Cúcuta (figura 4) se encontraron los siguientes HAP: 4) acenaftileno; 5) acenafteno; 6) fluoreno; 8) antraceno; 12) criseno; 13) benzo[b]fluoranteno; 14) benzo[k]fluoranteno; 15) benzo[a]pireno; 16) indeno[1,2,3-cd]pireno; 17) dibenzo[a,h]antraceno

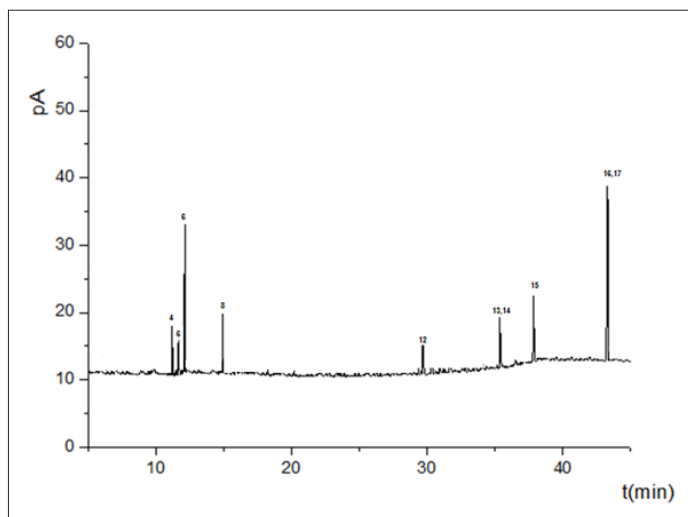


Figura 4. HAP encontrados en la fracción 2 del PM_{2.5} del aire de Cúcuta.

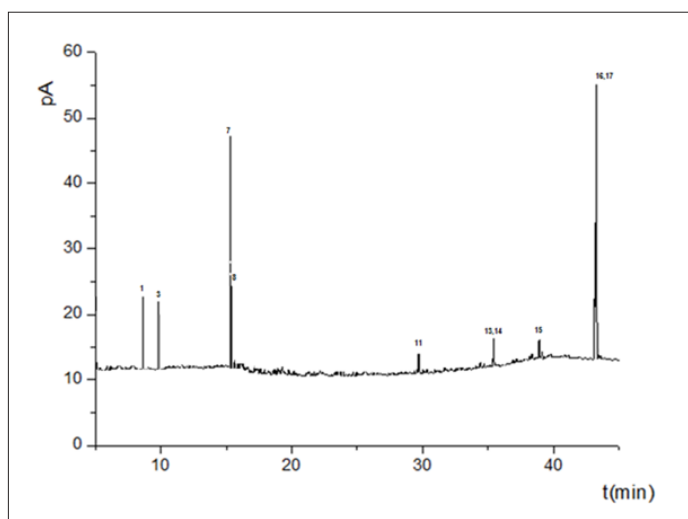


Figura 5. HAP encontrados en la fracción 3 del PM_{2.5} del aire de Cúcuta.

En la figura 5 se muestran los HAP encontrados en la fracción 3 del PM_{2.5} del aire de Cúcuta y corresponden a: 1) naftaleno; 3) 2-metilnaftaleno; 7) fenantreno; 8) antraceno; 11) benzo[a]antraceno; 13) benzo[b]fluoranteno;

14) benzo[k]fluoranteno; 15) benzo[a]pireno; 16) indeno[1,2,3-cd]pireno; 17) dibenzo[a,h]antraceno. De acuerdo con investigaciones relacionadas con el material particulado, los HAP están predominantemente presentes en la fracción del PM_{2.5} (Castro y col.2009; Slezakova y col.2010). Estos hallazgos son especialmente relevantes para la salud debido a que las partículas finas PM_{2.5} pueden penetrar las regiones más profundas de los pulmones como los bronquiolos, los alvéolos y causan muchos efectos adversos para la salud, incluyendo enfermedades cardiopulmonares y cáncer de pulmón (Slezakova y col. 2011). El fenantreno uno de los HAP encontrados en el aire de Cúcuta es característico de las emisiones del tráfico (Ravindra y col. 2006).

El estudio del fraccionamiento de la materia orgánica del PM_{2.5} es muy importante, ya que nos permite hallar algunos HAP que no se detectan en el extracto global; en nuestra investigación detectamos en las fracciones del PM_{2.5} al criseno, benzo[a]antraceno, la mezcla de benzo[b,k]fluorantenos, considerados como

Tabla 1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos extraídos con diclorometano-etanol-tolueno (extracto global) y las tres fracciones encontradas en el aire de Cúcuta.

Compuesto	Extracto global			
	(diclorometano-etanol-tolueno)	F1	F2	F3
Naftaleno	X	ND	ND	X
2-Metilnaftaleno	X	ND	ND	X
Acenaftileno	ND	X	X	ND
Fluoreno	ND	ND	X	ND
Fenantreno	X	X	ND	X
Antraceno	X	ND	X	X
Benzo[a]antraceno	ND	X	ND	X
Criseno	ND	X	X	ND
Benzo[b]fluoranteno	ND	X	X	X
Benzo[k]fluoranteno	ND	X	X	X
Benzo[a]pireno	X	X	X	X
Indeno[1,2,3-cd]pireno	X	X	X	X
Dibenzo[a,h]antraceno	ND	X	X	X

X-presencia; ND no detectado

F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3

posibles carcinógenos en humanos; además el fraccionamiento de la materia orgánica permitió detectar en el aire de Cúcuta al benzo[a]pireno considerado como carcinógeno en humanos. Es de anotar que estos HPA provienen exclusivamente de la combustión de las fuentes móviles que circulan con diesel y gasolina (Mi y col. 2000, 2001).

En la *tabla 1* se muestran los HAP encontrados en el aire de Cúcuta, extraídos con el sistema: diclorometano-etanol-tolueno, tanto en el extracto global como en cada una de las tres fracciones.

Los resultados de los HAP y metales (Gutiérrez y col. 2012) encontrados en el $PM_{2.5}$ del aire de Cúcuta son razonables, porque los orígenes de estos son principalmente emisiones de los tubos de escape del tráfico vehicular que es la principal fuente de $PM_{2.5}$ en esta ciudad y concuerdan con un estudio realizado (Meléndez Gelvez y col. 2012) en una zona de influencia netamente vehicular.

Determinación del daño del ADN por ensayo cometa

En la *figura 6* se observa la fotografía de algunos linfocitos, tomadas a través del microscopio de fluorescencia, durante los diferentes ensayos.

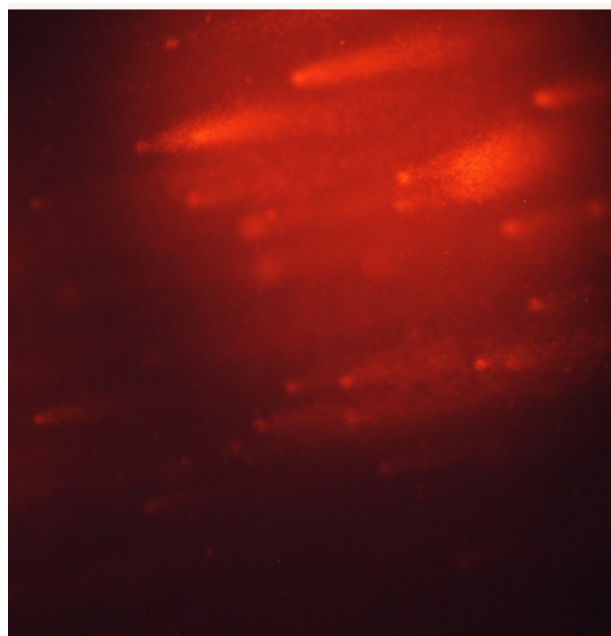


Figura 6. Cometas observados en los ensayos.

Analizador de imágenes Comet assay II, aumento 250X.

En el ensayo cometa se considera que existe daño en el ADN si el valor del daño supera dos veces el cociente del promedio de la cola de los linfocitos comparado con el control negativo. En la *figura 7* se observa el daño del ADN inducido por la fracción 2 con cada una de las dosis. En la *tabla 2* se muestra el resumen de los daños en el ADN respecto de las fracciones y las dosis de $PM_{2.5}$. Como se observa en la *tabla 2*, en las dosis estudiadas se observó daño en el ADN, esto podría estar relacionado con la presencia de los HAP encontrados en cada fracción. Al analizar la dosis 1 para cada una de las fracciones se observó que existió un daño mayor en la fracción 2. Al analizar la dosis 2 para cada una de las fracciones se observó que existió un daño mayor en la fracción 2, aunque es necesario señalar que el daño en el ADN es alto en las tres fracciones.

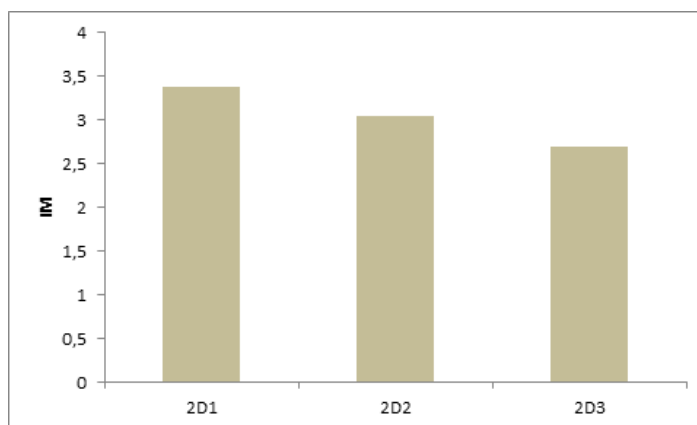


Figura 7. Daño observado en la fracción 2 en las tres dosis.

IM: índice de mutagenicidad. IM>2: daño al ADN

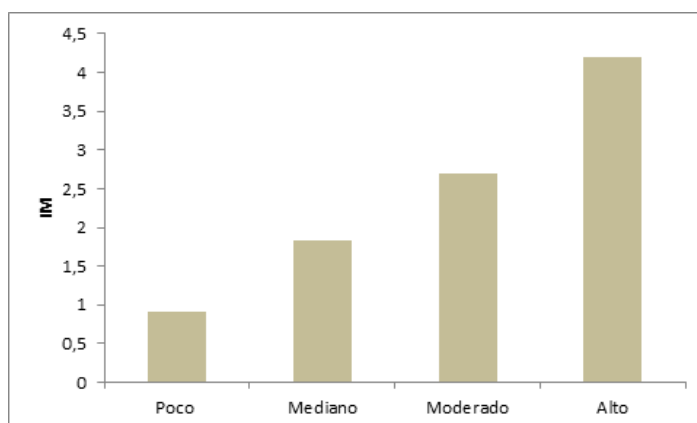


Figura 8. Daño observado en el ADN.

IM: índice de mutagenicidad. IM>2: daño al ADN

Tabla 2. Daños en el ADN encontradas en las fracciones del PM_{2.5}.

Dosis (µg)	F1	F2	F3
12,5	2,66	3,38	2,72
25	3,04	3,05	3,04
50	2,60	2,69	3,40

F1: fracción 1, F2: fracción 2, F3: fracción 3

En la *figura 8* se muestra el daño causado por la F1D1. Como se observa en esta gráfica el daño en el ADN en cada una de las dosis fue moderado y alto, lo que indica que la presencia de HAP en el material particulado PM_{2.5} del aire de Cúcuta puede ocasionar efectos genotóxicos. Muchos compuestos orgánicos cancerígenos son electrofílicos, una teoría ampliamente apoyada es que estas sustancias reaccionan con un átomo de nitrógeno del ADN, modificando el mensaje genético transmitido durante la formación de nuevas células. Este resultado nos indica que existe un riesgo en la población expuesta, teniendo en cuenta que existe una correlación entre el incremento del daño en el ADN y cáncer en humanos. Estos hallazgos indican que parte de la genotoxicidad mostrada por el aire de Cúcuta, es ocasionada por los HAP encontrados, dado que existe suficiente evidencia que correlaciona la presencia de estos compuestos y el riesgo para la salud humana. Resultados similares a los obtenidos en nuestra investigación se han encontrado en diferentes ciudades de América Latina, estudios de PM₁₀ en México (Amador Muñoz y col. 2001), en Argentina (Carreras y col. 2013), en Brasil (Vargas 2003) y en Chile (Rodríguez y col. 2005)

Conclusiones

Los HAP encontrados en el aire de Cúcuta y clasificados por la IARC como carcinógenos son: benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-c,d]pireno y dibenzo[a,h]antraceno y son contaminantes altamente peligrosos por presentar actividad mutagénica y genotóxica.

Los ensayos realizados para determinar la genotoxicidad de las fracciones mostraron que estas ocasionan un daño en el material genético. Es probable que este daño sea ocasionado por los HAP encontrados en cada

una de las fracciones de la materia orgánica extraída.

Este es el primer estudio que realizamos del aire de Cúcuta aplicando un sistema de tres solventes: diclorometano-etanol-tolueno en la extracción de la materia orgánica de los filtros de PM_{2.5}

Bibliografía citada

Amador Muñoz O., Delgado A., Rodríguez A., Villalobos Pietrinil R., Munive Colin Z., Ortiz Marttelo R., Diaz Gonzalez G., Bravo Cabrera JL., Gomez Arroyo S. Partículas suspendidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos y mutagenicidad en el suroeste de la Ciudad de México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 2001;17(4):193-204.

Arciniégas Suárez C.A. Diagnóstico y control de material particulado: partículas suspendidas totales y fracción respirable PM₁₀. *Luna Azul.* 2012;34(1):195-213.

Ayala M.C. Uso del Ensayo Cometa para Evaluar el Efecto de la Temperatura sobre la Reparación del Daño Genético inducido por Peróxido de Hidrógeno y la Radiación Ultravioleta A en Células Sanguíneas Humanas. *Acta Farm Bonaerense.* 2004;23(3):277-284.

Beelen R., Hoek G., Van Den Brandt P.A., Goldbohm R.A., Fischer P., Schouten L.J., Armstrong B., Brunekreef B. Long-term exposure to traffic related air pollution and lung cancer risk. *Epidemiology.* 2008;19:702-710.

Boonyatumanond R., Murakami M., Wayyatakorn G., Togo A., Takada H. Sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in street dust in a tropical Asian mega-city, Bangkok, Thailand. *Sci Total Environ.* 2007;384:420-432.

Boström C.E., Gerde P., Hanberg A., Jernström B., Johansson C., Kyrklund T., Rannug A., Törnqvist M., Victorin K., Westerholm R. Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environ Health Perspect.* 2002.110 Suppl 3:451-88.

Carreras H.A., Calderon-Segura M., Gomez-Arroyo S., Murillo Tovar M., Amador Muñoz O. Composition and mutagenicity of PAHs associated with urban airborne par-

ticles in Córdoba, Argentina. Environ Poll. 2013;178:403-410.

Castro D., Slezakova K., Oliva-Teles M.T., De-lerue-Matos C., Alvim-Ferraz M.C., Morais S., Pereira M.C. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particulate samples by microwave-assisted extraction and liquid chromatography. J Sep Sci. 2009;32:501-510.

Consuegra A.A. Estudio de la contaminación atmosférica generada por óxidos de azufre, óxidos de nitrógeno y material particulado en un sector de la ciudad de Bogotá. Primera parte. Avances Investigación en Ingeniería. 2006;22:32-36.

Culotta L., De Stefano C., Gianguzza A., Mannino M.R., Orecchio S. The PAH composition of surface sediments from Stagnone coastal lagoon, Marsala (Italy). Mar Chem. 2006;99:117-127.

Culotta L., Gianguzza A., Orecchio S. Leaves of *Nerium oleander* L. as bioaccumulators of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in the air of Palermo (Italy). Extration. GC-MS analysis, distribution, sources. Polycyclic Aromat Compd. 2005;25:327-344.

Dagouassat M., Lanone S., Boczkowski J. Interaction of matrix metalloproteinases with pulmonary pollutants. Eur Respir J. 2012;39(4):1021-1032.

De Kok T.M.C.M.; Driee H.A.L., Hogervorst J.G.F., Briede J.J. Toxicological assessment of ambient and traffic-related particulate matter: a review of recent studies (review). Mutat Res. 2006;613:103-122.

Directive 2004/107/EC. Directive of the European Parliament and of the Council Relating to Arsenic, Cadmium, Mercury, Nickel and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ambient Air. Off J Eur Union. 2005;L23, 3-16.

Douglas M.J., Watkins S.J., Gorman D.R., Higgins M. Are cars the new tobacco? J Public Health (Oxf.). 2011;33:160-169.

European Environmental Agency (EEA), Annual European Community LRTAP Convention Emissions Inventory Report 1990-2006, EEA Technical Report No. 7, EEA, Copenhagen, 2008.

European Environmental Agency (EEA), Transport and Environment in Europe, EEA Briefing 03/2004, EEA, Copenhagen, 2004.

Fang G.C., Chang C.N., Wu Y.S., Fu P.P.C., Yang I.L., Chen M.H. Characterization, identification of ambient air and road dust polycyclic aromatic hydrocarbons in central Taiwan, Taichung. Sci Total Environ. 2004;327:135-146.

Giocalone A., Gianguzza A., Mannino M.R., Orecchio S., Piazzese D. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of marine coastal lagoons in Messina, Italy: extraction and GC/MS analysis, distribution and sources. Polycyclic Aromat Compd. 2004;24:135-149.

Gozgit J.M., Nestor K.M., Fasco M.J., Pentecost B.T., Arcaro K.F. Differential action of polycyclic aromatic hydrocarbons on endogenous estrogen-responsive genes and on transfected estrogen-responsive reporter in MCF-7 cells. Toxicol Appl Pharmacol. 2004;196:58-67.

Gutierrez J.H., Quijano Vargas M.J., Quijano Parra A. Caracterización fisicoquímica del Material Particulado-Fracción Respirable (PM_{2.5}) en Cúcuta (Colombia). Bistua: Revista de la facultad de Ciencias Básicas. 2012;10(1):1-11.

Halatek T., Sinczuk-Walczak H., Szymczak M., Rydzynski K. Neurological and respiratory symptoms in shipyard welders exposed to manganese. J Occup Med Environ Health. 2005;18(3):265-74

Hanedar A., Alp K., Kaynak B., Baek J., Avsar E., Odman M.T. Concentrations and sources of PAHs at three stations in Istanbul, Turkey. Atmos Res. 2011;99:391-399.

International Agency for Research on Cancer (IARC). Some nonheterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 2010;92:773.

International Agency for Research on Cancer (IARC). Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 2002;82:367.

- Khan M.F., Shirasuna Y., Hirano K., Masunaga S. Characterization of PM_{2.5}, PM_{2.5-10} and PM_{> 10} in ambient air, Yokohama, Japan. *Atmos Res.* 2010;96:159–172
- Khare P., Baruah B.P. Elemental characterization and source identification of PM_{2.5} using multivariate analysis at the suburban site of North-East India. *Atmos Res.* 2010;98:148–162.
- Kosmehl T., Hallare A.V., Braunbeck T., Hollert H. DNA damage induced by genotoxicants in zebrafish (*Danio rerio*) embryos after contact exposure to freeze dried sediment and sediment extracts from Laguna Lake (The Philippines) as measured by the comet assay. *Mutat Res.* 2008;650:1–14.
- Kunzli N., Kaiser R., Medina S. Public-health impact of outdoor and traffic-related air pollution: a European assessment. *Lancet.* 2000;356:795–801.
- Lee M.L., Novotny M.V, Bartle K.D. Analytical chemistry of polycyclic aromatic compounds. Academic Press Inc. 1981.
- Lu H., Chen S. Pollution level, phase distribution and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor air at public places of Hangzhou, China. *Environ Pollut.* 2008;152:569–575.
- Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B. Habitat function of agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination. *Environ Intern.* 2003;28:719–728.
- Maliszewska-Kordybach B., Terelak H. Monitoring agricultural soils in Poland contamination with PAHs as related to heavy metals content, in: W. Harder, F. Arendt (Eds.), *Contaminated Soil*, Thomas Telford Publishing, Great Britain. 2000:1493–1494.
- Manoli E., Kouras A., Samara C. Profile analysis of ambient and source emitted particle-bound polycyclic aromatic hydrocarbons from three sites in northern Greece. *Chemosphere.* 2004;56:867–878.
- Massoud R., Shihadeh A.L., Roumié M., Youness M., Gerard J., Saliba N., Zaarour R., Abboud M., Farah W., Saliba N.A. Intraurban variability of PM₁₀ and PM_{2.5} in an Eastern Mediterranean city. *Atmos Res.* 2011;101:893–901.
- Meléndez Gélvez I., Martínez Montañez M.L., Quijano Parra A. Actividad mutagénica y genotóxica en el material particulado fracción respirable MP_{2.5}, en Pamplona, Norte de Santander, Colombia. *Iatreia.* 2012;25(4):347–356.
- Mi H.H., Lee W.J., Chen C.B. Effect of fuel aromatic content on PAH emission from a heavy-duty diesel engine. *Chemosphere.* 2000;41:1783–1790.
- Mi H.H., Lee W.J., Tsai P.J., Chen C.B. A comparison on the emission of polycyclic aromatic hydrocarbons and their corresponding carcinogenic potencies from a vehicle engine using leaded and lead-free gasoline. *Environ Health Perspect.* 2001;109(12):1285–1290.
- Muránszky G., Óvári M., Virág I., Csiba P., Dobai R., Zárny G. Chemical characterization of PM₁₀ fractions of urban aerosol. *Microchem J.* 2011;98:1–10
- Novotna B., Topinka J., Solansky I., Chvatalova I., Lnenickova Z., Sram R.J. Impact of air pollution and genotype variability on DNA damage in Prague policemen. *Toxicol Lett.* 2007;172:37–47.
- Okona–Mensah K.W., Battershill J., Boobis A., Fielder R. An approach to investigating the importance of high potency polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the induction of lung cancer by air pollution. *Food Chem Toxicol.* 2005;43:103–1116.
- Omar N.Y.M.J., Abas M.R.B., Ketuly K.A., Tahir N.M. Concentrations of PAHs in atmospheric particles (PM₁₀) and roadside soil particles collected in Kuala Lumpur, Malaysia. *Atmos Environ.* 2002;36:247–254.
- Orecchio S., Papuzza V. Levels, fingerprint and daily intake of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bread baked using wood as fuel. *J Hazard Mater.* 2009;164:876–83.
- Pachón J., García H., Bustos M., Bravo H., Sosa R. Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras de partícu-

las atmosféricas en la zona metropolitana de la ciudad de Bogotá (Colombia). *Meteorol Colomb.* 2004;8:27-35.

Ping L., Panuwat H. Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on lime spray dryer (LSD) ash using different extraction methods. *Chemosphere.* 2006;62:265-274

Pufulete M., Battershill J., Boobis A., Fielder R. Approaches to carcinogenic risk assessment for polycyclic aromatic hydrocarbon: a UK perspective. *Regul Toxicol Pharm.* 2004;40:54-56

Querol X., Alastuey A., Ruiz C.R., Artiñano B., Hansson H.C., Harrison R.M., Buringh E., Brink H.M. ten, Lutz M., Bruckmann P., Straehl P., Schneider J. Speciation and origin of PM₁₀ and PM_{2.5} in selected European cities. *Atmos Environ.* 2004;38(38):6547-55.

Ravindra K., Bencs L., Wauters E., de Hoog J., Deutsch F., Roekens E., Bleux N., Bergmans P., Van Grieken R. Seasonal and site specific variation in vapor and aerosol phase PAHs over Flanders (Belgium) and their relation with anthropogenic activities. *Atmos Environ.* 2006;40:771-785.

Rodriguez E., Gil L., Adonis M. Contribución de las emisiones diésel en los niveles de toxicidad de las diferentes fracciones de material particulado respirable en Santiago de Chile. En: *Contaminación y Medio Ambiente: Santiago de Chile.* Castellon, Sanfeliu T., Jordan M.M. y Boix A., Eds. Castello de la Plana: Publicaciones de la Universitat Jaume I. 2005. P 49-75.

Shah M.H., Shaheen N., Jaffar M., Khalique A., Tariq S.R., Manzoor S. Spatial variations in selected metal contents and particle size distribution in an urban and rural atmosphere of Islamabad, Pakistan. *Journal of Environmental Management.* 2006;78:128-137.

Shaheen N., Shah M.H., Khalique A., Jaffar M. Metal levels in airborne particulate matter in urban Islamabad, Pakistan. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2005;75(4):739-746.

Shibamoto T. *Chromatographic Analysis of Environmental and Food Toxicants.* Marcel Dekker, INC., New York. 1998.

Slezakova K., Castro D., Delerue-Matos C., Alvim-Ferraz M.C., Morais S., Pereira M.C. Air pollution from traffic emissions in Oporto, Portugal: Health and environmental implications. *Microchem J.* 2011;99:51-59.

Slezakova K., Castro D., Pereira M.C., Morais S., Delerue-Matos C., Alvim-Ferraz M.C.M. Influence of traffic emissions on the carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in outdoor breathable particles. *J Air Waste Manage Assoc.* 2010;60:393-401.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). *Guidelines for Carcinogen Risk Assessment.* Federal Register, EPA/630/R-00/004, Washington DC. 1986;51(185),33992-34003.

Vargas F.A., Rojas N.Y. Composición química y reconstrucción másica del material particulado suspendido en el aire de Bogotá. *Ingeniería e Investigación.* 2010;30(2):105-115.

Vargas V.M.F. Mutagenic activity as a parameter to assess ambient air quality for protection of the environment and human health. *Mutat Res.* 2003;544:313-319.

Vinitketkumnun U., Kalayanamitra K., Chewonarin T., Kamens R. Particulate matter, PM₁₀ & PM_{2.5} levels, and airborne mutagenicity in Chiang Mai, Thailand. *Mutat Res.* 2002;519:121-131.

Xu L., Chen X., Chen J., Zhang F., He C., Zhao J., Yin, L. Seasonal variations and chemical compositions of PM_{2.5} aerosol in the urban area of Fuzhou, China. *Atmos Res.* 2012;104-105:264-272.

Yang X.Y., Igarashi K., Tang N., Lin J.M., Wang W., Kameda T., Toriba A., Hayakawa K. Indirect- and direct-acting mutagenicity of diesel, coal and wood burning-derived particulates and contribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutat Res.* 2010;695(1-2):29-34.

Escorpiones y escorpionismo en la provincia de Jujuy Scorpions and scorpionism in the province of Jujuy

Ojeda, Marta A.¹; Neder de Román, Lilia E.²

¹Hospital San Roque. Servicio de Infectología. Ministerio de Salud de la Provincia de Jujuy. San Martín 330 CP 4600. S.S de Jujuy.

²Instituto de Biología de la Altura –Universidad Nacional de Jujuy– CONICET. Av. Bolivia 1661- CP 4600- S.S. de Jujuy.

E-mail: malejandraojeda@yahoo.com

Recibido: 6 de febrero de 2017

Aceptado: 6 de mayo de 2017

Resumen. En Sudamérica los escorpiones que revisten importancia sanitaria pertenecen a la familia Buthidae y al género *Tityus*. En Argentina existen seis especies: *T. trivittatus* Kraepelin, *T. confluens* Borelli, *T. bahiensis* (Perty), *T. argentinus* Borelli, *T. paraguayensis* Kraepelin y *T. uruguayensis* Borelli, de las cuales sólo las tres primeras demostraron poseer venenos tóxicos capaces de ocasionar accidentes fatales. En Jujuy la especie más importante fue *T. confluens* y recientemente se registró *T. trivittatus*. También está presente *T. argentinus*, que hasta el momento, no reviste riesgo sanitario. Los objetivos del presente trabajo fueron identificar los escorpiones del género *Tityus* (Buthidae), obtenidos en cinco instituciones de referencia de la provincia de Jujuy, conocer su distribución, abundancia, estacionalidad y relación con variables climáticas en dos eco-regiones (Valles y Yungas); ámbito de ocurrencia de hallazgos y accidentes, horario de los mismos y características epidemiológicas de los accidentados (edad, sexo, óbitos). El periodo considerado fue octubre 2013 a septiembre 2014. Se registraron los accidentes y hallazgos de escorpiones de las instituciones de la ciudad capital con área de influencia en la región Valles y aquellas del interior provincial con área de influencia en la región Yungas. Se analizaron 422 ejemplares de escorpiones. Las especies presentes fueron *Tityus argentinus*, *T. trivittatus* y *T. confluens*; esta última dominó en Yungas. El mayor número de registros de *T. trivittatus* se obtuvo en la ciudad de San Pedro de Jujuy. En la región Valles, *T. argentinus* fue la especie dominante. La mayor cantidad de accidentes y hallazgos de escorpiones se registró por la mañana y en los meses cálidos con valores máximos de abundancia en diciembre. Si se considera el ámbito de ocurrencia predominaron los accidentes y hallazgos intradomiciliarios (92%); el dormitorio fue el lugar más mencionado (46%). Entre los accidentados predominó el sexo femenino (66%). La franja etaria más afectada fue la de los adultos (75%), en particular el rango 26-35 años; en la franja pediátrica el mayor número de accidentes se produjo en niños mayores de 7 años. No se registraron óbitos. El conocimiento de la distribución espacial y temporal de *T. confluens* sumada al ingreso y colonización de *T. trivittatus* convierten a la provincia de Jujuy en un área de mayor riesgo, siendo necesaria una estricta vigilancia epidemiológica de los casos de escorpionismo. Este es el primer estudio que integra aspectos taxonómicos y epidemiológicos en esta provincia

Palabras clave: *Tityus*; Epidemiología; Distribución; Jujuy

Abstract. In South America the scorpions that are of health care importance belong to the Buthidae family and to the *Tityus* genus. There are six species in Argentina: *T. trivittatus* Kraepelin, *T. confluens* Borelli, *T. bahiensis* (Perty), *T. argentinus* Borelli, *T. paraguayensis* Kraepelin and *T. uruguayensis* Borelli, of which only the first three demonstrated to possess toxic poisons capable of causing fatal accidents. *T. confluens* is the most important species in Jujuy and *T. trivittatus* has been recently recorded. Also present is *T. argentinus*, which has not posed a health risk to date. The objectives of the present work were to identify scorpions of the *Tityus* (Buthidae) genus received at five reference institutions in the province of Jujuy, to identify their distribution, abundance, seasonality and relation with climatic variables in two eco-regions (Valles and Yungas), area of occurrence of findings and accidents, their schedule and epidemiological characteristics of the victims (age, sex, deaths). The period considered was from October 2013 to September 2014. Accidents and findings of scorpions from the institutions of the capital city with area of influence in the valleys region and those of the provincial interior with area of influence in the Yungas region were recorded. 422 specimens of scorpions were analyzed. The species present were *Tityus argentinus*, *T. trivittatus* and *T. confluens*; the latter dominated in Yungas. The highest number of *T. trivittatus* records was obtained in the city of San Pedro de Jujuy. In the Valles region, *T. argentinus* was the dominant species. The largest number of accidents and scorpion finds were recorded in the morning and in warm months with maximum abundance values in december. Considering the scope of occurrence, 92% of scorpion findings and accidents predominated intradomiciliarily. The bedroom was the most mentioned place (46%). Among the victims, the female sex predominated (66%). The most affected age group was that of adults (75%), in particular the range 26-35 years. In the pediatric group, the greatest number of accidents occurred in children older than 7 years. No deaths were recorded. The knowledge of the spatial and temporal distribution of *T. confluens* plus the entrance and colonization of *T. trivittatus* make the province of Jujuy an area of greater risk, requiring a strict epidemiological surveillance of scorpionism cases. This is the first study that integrates taxonomic and epidemiological aspects in this province.

Keywords: *Tityus*; Epidemiology; Distribution; Jujuy

Introducción

Los escorpiones, conocidos también con el nombre de alacranes viven en las zonas tropicales y templadas del mundo. Se distribuyen en casi todo el territorio argentino desde la Puna, con hallazgos a más de 4000 m de altitud, hasta la selva misionera y desde allí, hasta el extremo sur de la Patagonia (Maury 1986).

Las familias presentes en Argentina son: Bothriuridae y Buthidae. Esta última, incluye al género *Tityus* de importancia sanitaria. Actualmente existen seis especies: *T. trivittatus* Kraepelin 1898, *T. confluens* Borelli 1899, *T. bahiensis* (Perty 1834), *T. argentinus* Borelli 1899, *T. paraguayensis* Kraepelin 1895 y *T. uruguayensis* Borelli 1901. Sólo las tres primeras demostraron poseer venenos tóxicos capaces de ocasionar accidentes fatales (Ojanguren Affilastro 2005; de Roodt y col. 2009; de Roodt 2015). Un ejemplar de *T. serrulatus* Lutz y Mello 1922, especie más importante desde el punto de vista médico en Brasil, fue hallado en el noreste argentino, en la provincia de Corrientes, pero no se considera que dicha especie esté instalada en Argentina (Camargo y Ricciardi 2000).

En nuestro país, en las últimas décadas, se han incrementado notoriamente las notificaciones por picaduras de escorpiones y de muertes, debido a éstas. Se registraron desde 1993 a 1999 tres muertes; entre 2000 y 2006, 19 óbitos (de Roodt 2015) y entre 2007 y 2011, 8 muertes (Casas y col. 2012); todas ellas se produjeron en niños. En el noroeste argentino, en el periodo 2000-2011 el registro de casos fue significativo representando el 39% de los accidentes y el 29% de las muertes a nivel nacional (de Roodt y col. 2013).

En Jujuy la especie más importante desde el punto de vista sanitario fue *T. confluens*, que provocó la muerte de dos niños en 2003. El estudio del veneno de ejemplares jujeños y de otras regiones del noroeste argentino permitió categorizar a esta especie como de importancia sanitaria (de Roodt y col. 2009). Recientemente se registró la presencia de *T. trivittatus* en la provincia (Ojeda y Neder de Román 2015). *T. argentinus*, también presente en Jujuy (Neder y col. 2007), hasta el momento no reviste riesgo para la vida humana, pero al pertenecer al género *Tityus* sería potencialmente peligrosa (Ministerio de Salud de la Nación 2011).

Los objetivos del presente trabajo fueron

identificar los escorpiones del género *Tityus* (Buthidae), obtenidos en instituciones de referencia de la provincia de Jujuy, conocer su distribución y abundancia, estacionalidad, relación con variables climáticas, franja horaria, ámbito de aparición u ocurrencia de accidentes y características epidemiológicas de los accidentados (edad, sexo, óbitos).

Materiales y métodos

Área de estudio: la provincia de Jujuy se encuentra ubicada al noroeste de la República Argentina, limitando con Bolivia y Chile. Está situada entre 22° y 24° de Latitud Sur y 65° y 67° de Longitud Oeste. Su superficie es de 53.219 km² y su población de 673.307 (Censo 2010). Presenta diferencias altitudinales, las que conjuntamente con la variada orografía determinan diferentes ecorregiones para cada lugar de la provincia (Figura 1).

La región Puna, arriba de los 3000 metros sobre el nivel del mar, es fría y árida con gran amplitud térmica diaria; la región Quebrada, templada y semiárida se ubica entre los 1500 y 3000 msnm.

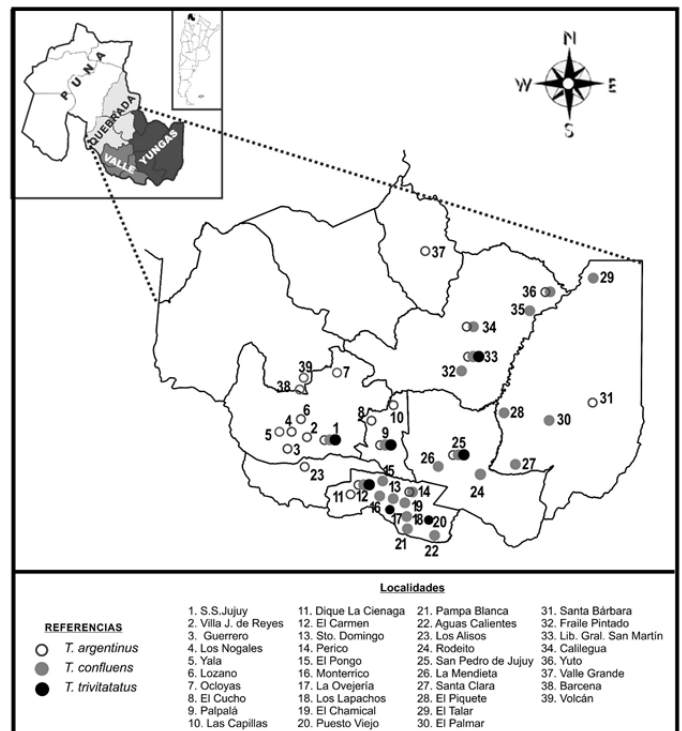


Figura 1. Distribución de las tres especies de *Tityus* en las ecorregiones (Valles y Yungas) de la provincia de Jujuy.

Hacia el sur se encuentra la región templada de los Valles y al este la región Yungas, con clima subtropical cálido y húmedo; sus altitudes varían desde los 300 a los 2500 msnm.

En estas dos últimas ecorregiones, que concentran el 88% de la población provincial, se realizó la presente investigación. Los datos referidos a accidentes y hallazgos de escorpiones del género *Tityus* procedieron de los hospitales de referencia en accidentes por animales venenosos. En los Valles, dichos nosocomios son: Hospital San Roque y Hospital de Niños "Dr. Héctor Quintana" (ciudad capital); en las Yungas: los hospitales Guillermo Paterson y Oscar Orías (interior provincial).

También se consideraron los ejemplares recibidos en el Instituto de Biología de la Altura (INBIAL), Universidad Nacional de Jujuy (UNJu), derivados de instituciones asistenciales o por particulares de toda la provincia, para identificar las especies y su importancia sanitaria.

Se definió como hallazgos todos los escorpiones recibidos que no provocaron picadura y como accidentes aquellos con picadura comprobada. Sólo se consideraron los casos confirmados de escorpionismo, que contaban con el ejemplar y se excluyeron aquellos casos sospechosos, que a pesar de tener cuadro clínico y epidemiología compatibles, no llevaron a la consulta el escorpión (Ministerio de Salud de la Nación 2011).

El periodo de estudio se extendió desde el 1 de octubre de 2013 hasta el 30 de setiembre de 2014.

Se consideraron: especie de escorpión, número de ejemplares, localidad de procedencia, fecha, rango horario (madrugada: 0-5 hs; mañana: 6-11 hs, tarde: 12-17 hs; noche: 18-23 hs) y ámbito de ocurrencia: domiciliario (dormitorio, baño, cocina, comedor, lavadero y otros) y peridomiciliario. En los accidentados se consideraron: sexo, franja etaria (se categorizó la franja pediátrica de 0 a 7 años y de 8 a 15 años, y en adultos en intervalos de diez años a partir de los 16 años) y evolución del accidentado.

Se analizaron las variables ambientales (temperaturas y precipitaciones de ambas regiones) y su correlación con la abundancia de escorpiones por día y por estación del año. Para la región Valles se usaron los datos meteorológicos de San Salvador de Jujuy, proporcionados por el Servicio Meteorológico Augusto

M. Romain, de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu y para la región Yungas los obtenidos por la Empresa Ledesma de Libertador General San Martín.

Para analizar la relación entre el número de escorpiones por día y la temperatura media y las precipitaciones en cada ecorregión (Valle y Yungas) se utilizó la correlación de Pearson y la regresión lineal múltiple luego de comprobar la verificación de los supuestos básicos de este modelo.

Para la comparación estacional del número promedio de escorpiones por día y la temperatura media en ambas ecorregiones se utilizó la prueba de Levene de igualdad de varianzas (estadístico F de Snedecor) previo a la prueba t de igualdad de medias para muestras independientes (t de Student).

Las especies se identificaron en el Instituto de Biología de la Altura, mediante claves específicas (Acosta y Maury 1998; Ojanguren Afilastro 2005). En aquellos casos en que las condiciones del ejemplar no permitieron la identificación específica se determinó solo el género (*Tityus*).

Resultados

Se analizaron 422 ejemplares de escorpiones del género *Tityus* (Buthidae): 204 de capital y 218 del interior provincial procedentes de 119 hallazgos y 303 accidentes.

Las especies presentes fueron *Tityus argentinus*, *Tityus trivittatus* y *Tityus confluens*. En la *Tabla 1* se muestra el número total de ejemplares por especie, obtenido en cada institución, según hallazgos o accidentes.

T. argentinus esta especie se registró principalmente en la región Valles: en la ciudad capital (todos los barrios), Reyes, Guerrero, Yala, Lozano, Ocloyas, Palpalá, Los Alisos, El Carmen. En las Yungas: en San Pedro de Jujuy y Valle Grande (*Figura 1*).

T. confluens se registró principalmente en Yungas: Santa Clara, La Mendieta, Rodeito y en todos los barrios de las ciudades de San Pedro de Jujuy y Libertador General San Martín. En el Valle, en la ciudad capital (zona sur), Santo Domingo, Los Lapachos y El Chamental (*Figura 1*).

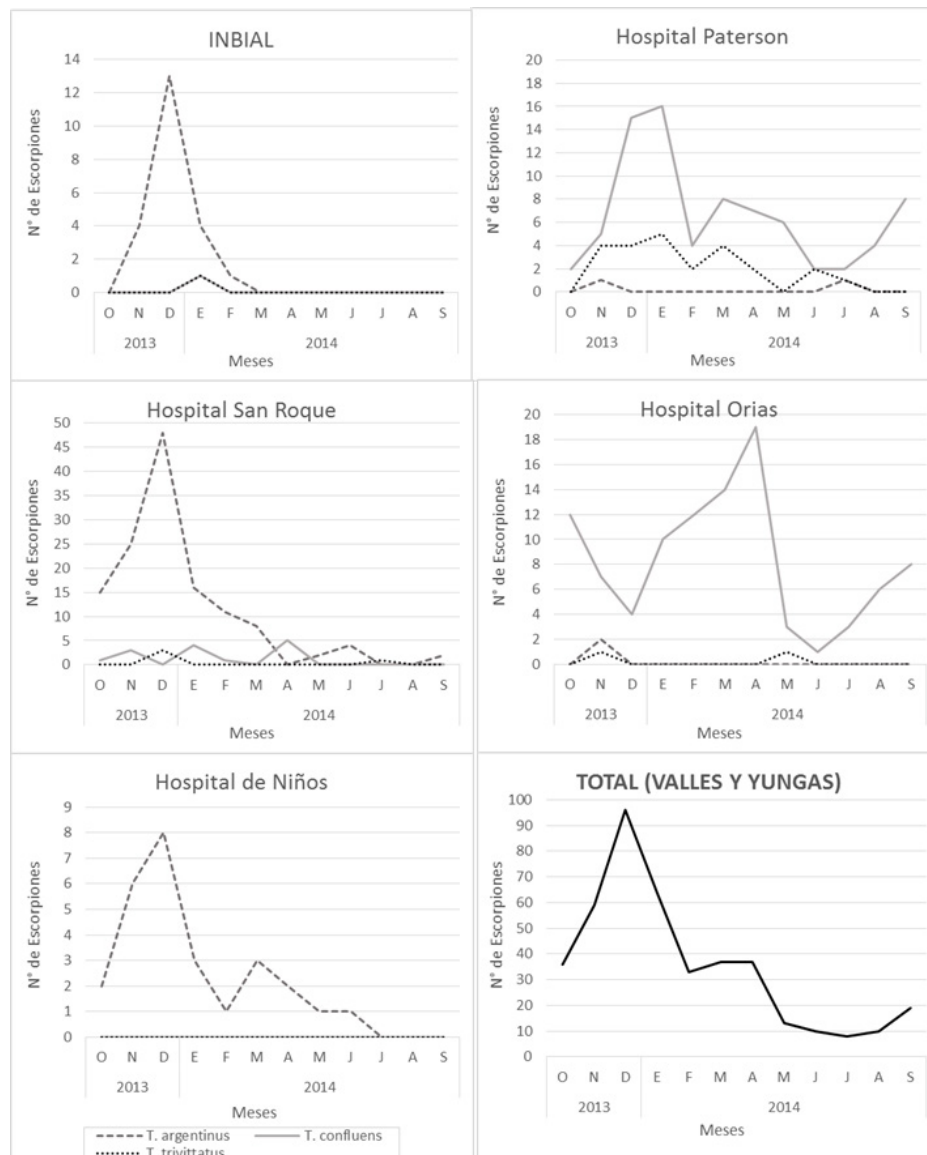
T. trivittatus: esta especie fue registrada en las Yungas en las ciudades de San Pedro (abarcando la mayoría de los barrios) y Libertador General San Martín. En el Valle en: S.S. de Jujuy, Palpalá, El Carmen, La Ovejería y Puesto Viejo (*Figura 1*).

Tabla 1. Número de ejemplares de escorpiones, por especie, que ingresaron a cinco instituciones de referencia de Jujuy. H: hallazgos; A: accidentes

Especies	INBIAL		Hospital San Roque		Hospital de Niños		Hospital Orías		Hospital Paterson		Total
	H	A	H	A	H	A	H	A	H	A	
<i>Tityus argentinus</i>	22	0	40	91	1	26	1	1	1	1	184
<i>Tityus confluens</i>	1	0	6	8	0	0	20	79	20	59	193
<i>Tityus trivittatus</i>	0	1	2	2	0	0	1	1	3	21	31
<i>Tityus sp</i>	0	0	0	3	0	1	1	6	0	3	14
Total	23	1	48	104	1	27	23	87	24	84	422

En la *figura 2* se presentan las fluctuaciones de las tres especies de *Tityus* en el periodo analizado, registrándose los valores máximos de abundancia de escorpiones en la primera quin-

cena de diciembre en las instituciones de la región Valles. En las Yungas los mayores valores se alcanzan en diciembre-enero (Hospital Paterson) y en abril (Hospital Orías).

**Figura 2.** Número de escorpiones, por especie, obtenido en el periodo octubre/2013 -setiembre/2014 en cinco instituciones de referencia, que pertenecen a las ecorregiones: Valles y Yungas, de la provincia de Jujuy.

Los escorpiones que provocaron accidentes representaron el 72% del total de la muestra. Las especies involucradas son: *T. argentinus*, *T. confluens* y *T. trivittatus*. En los hospitales del interior provincial *T. confluens* y *T. trivittatus* fueron los responsables del 93% de los accidentes mientras que en la capital las instituciones reportaron que el 89 % de los accidentes se debieron a *T. argentinus*.

La mayor cantidad de hallazgos y accidentes se registró en horas de la mañana y la madrugada (28% y 25% respectivamente). Con respecto al ámbito de ocurrencia predominaron los accidentes y hallazgos intradomiciliarios (92%), en distintos ambientes: dormitorio (46%), baño (15%), cocina (10%), comedor (8%), lavadero (6%) y sin especificar (15%). Entre los accidentados adultos predominó el sexo femenino (66%), mientras que en la franja pediátrica los valores fueron semejantes en ambos sexos.

Las edades de los accidentados oscilaron entre los 10 meses de vida y los 82 años de edad. Con respecto a la franja pediátrica (25%) el mayor número de accidentes se produjo en niños mayores de 7 años (Figura 3a) y en los adultos (75%) entre los 26 y 35 años (Figura 3b).

Durante el periodo analizado no se registraron óbitos, en ninguna franja etaria.

Las correlaciones lineales entre el número de escorpiones por día y la temperatura media, en Valles y Yungas, fueron bajas ($r=0,379$ y $r=0,276$, respectivamente). En cuanto a las precipitaciones la correlación fue más baja en Valles ($r=0,249$) y muy baja en Yungas ($r=0,071$). Excepto en este último caso, las correlaciones fueron estadísticamente significativas ($p<0,01$). En las cuatro estaciones del año las temperaturas medias diarias en las Yungas fueron significativamente mayores que las de los Valles ($p<0,01$) (Tabla 2).

El promedio de escorpiones por día, durante la primavera es estadísticamente mayor en la zona de Valles que en Yungas, mientras que en otoño e invierno se da la situación inversa ($p<0,01$). En verano, en cambio, no hay diferencias significativas en la cantidad promedio de escorpiones por día entre ecorregiones (Tabla 2).

Discusión

La zona este de la Cordillera de los Andes es una de las siete regiones del mundo identificada como de riesgo para escorpionismo (Chippaux y Goyffon 2008). Jujuy, se ubica al norte de Argentina, entre dicha Cordillera y la planicie chaqueña.

En nuestro país, el escorpionismo se ha transformado, en las últimas décadas, en un problema de salud pública con alrededor de 7000 accidentes por año (de Roodt y col. 2010; de Roodt 2014).

En Jujuy, en la región Yungas, en 2003 se produjeron dos muertes de niños en las localidades de San Pedro de Jujuy y Libertador General San Martín atribuidas a *T. confluens*. Este hecho marcó un punto de inflexión en las denuncias de hallazgos y accidentes, incrementándose los mismos notablemente (Neder de Román y col. 2007), notificándose 270 casos de escorpionismo en 2009 (Boletín de Vigilancia 2010) y alcanzando 616 casos en el año 2014 (Boletín Epidemiológico de la Provincia de Jujuy 2016). El mayor número de notificaciones de escorpionismo correspondió a la regiones Yungas (Departamentos Ledesma, San Pedro) y Valles (Departamentos El Carmen, Palpalá y General Belgrano), coincidentes con la procedencia de los hallazgos y accidentes registrados en este estudio.

Con respecto a las especies involucradas, en la región Yungas, *T. confluens* fue dominante

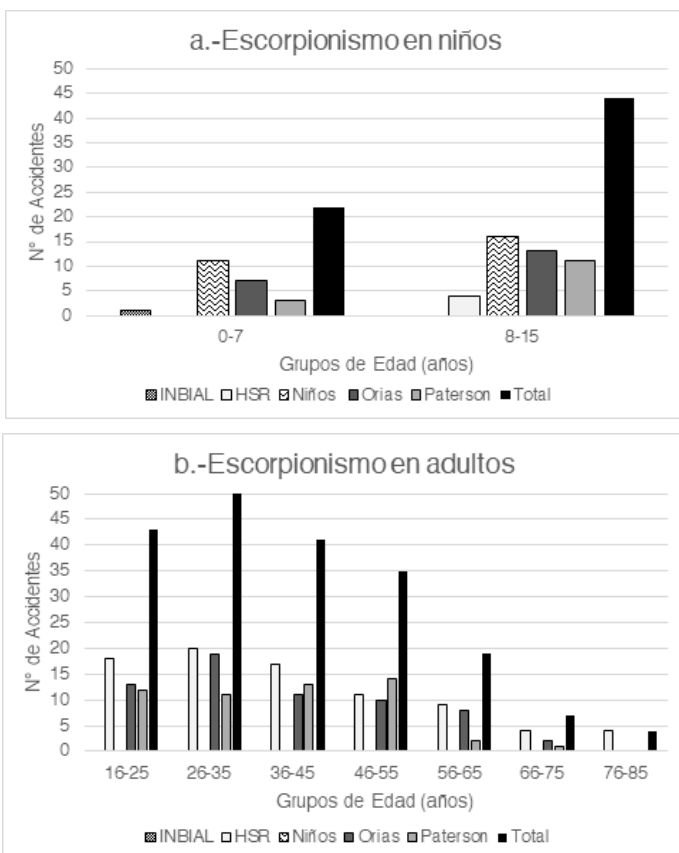


Figura 3. Escorpionismo en adultos (a) y en niños (b) en instituciones de referencia de la provincia de Jujuy.

Tabla 2. Variables climáticas y número de escorpiones/día en las ecorregiones de Valles y Yungas, según las estaciones.

Variables	VALLES				YUNGAS			
	P	V	O	I	P	V	O	I
Temperaturas medias diarias (°C)	20,4	20,8	15,1	13,5	25,7	26,2	19,6	18
Precipitaciones medias diarias (mm)	2,96	5,54	1,11	0,3	1,52	6	2,43	0,1
Nº de escorpiones por día (media)	1,27	0,71	0,24	0,02	0,64	0,87	0,55	0,34

P: primavera; V: verano; O: otoño; I: invierno

representando 90% (Hospital Orías) y 73% (Hospital Paterson). Si bien esta especie ha sido descrita en ambientes naturales preferentemente en el Chaco Occidental Seco (Ojanguren Affilastro 2005), su buena adaptación a zonas urbanas le ha permitido ingresar y permanecer en áreas más húmedas como las Yungas jujeñas.

A la ya conocida distribución en Fraile Pintado, Ledesma, El Palmar, S.S. de Jujuy, San Pedro, Palpalá, Monterrico (Ojanguren Affilastro 2005; Neder de Román y col. 2007), se agregan a partir del presente estudio las localidades de El Carmen, Santo Domingo, Los Lapachos, El Chamental, Santa Clara, La Mendieta y Rodeito (Figura 1).

En Argentina, en las últimas décadas, *T. confluens* se convirtió en un problema sanitario de igual magnitud que *T. trivittatus* (de Roodt 2014). Ambas se han adaptado eficientemente a hábitats alterados por el ser humano siendo los accidentes favorecidos por su comportamiento sinantrópico.

T. trivittatus es la especie de mayor importancia médica por la toxicidad de su veneno y amplia distribución en el país (de Roodt y col. 2003; de Roodt 2014, 2015). Hasta 2003 fueron reportados accidentes en siete provincias argentinas entre los 26° y 36° de Latitud Sur (de Roodt y col. 2003). Diez años después, su distribución se amplió a 14 provincias en el centro y norte del país (Ojanguren Affilastro 2005; de Roodt 2014, 2015), aunque sin registros para la provincia de Jujuy.

Los primeros ejemplares jujeños de *T. trivittatus* se obtuvieron en el marco de un estudio multicéntrico (Ojeda 2014) y se dieron a conocer en el IX Congreso Argentino de Entomología (Ojeda y Neder de Román 2015). De los 31 especímenes recolectados en este estudio, el 84% procede de los hospitales ubicados en la zona de las Yungas y el 16% restante de Valles. Los escorpiones son animales sedentarios que

se desplazan activamente desde su ambiente natural o son transportados pasivamente mediante valijas, plantas, objetos, etc. El área de distribución original de *T. trivittatus*, en Argentina, abarcaría las provincias mesopotámicas y áreas adyacentes llegando sus poblaciones naturales hasta Santiago del Estero y Córdoba (Acosta 2005). Existen numerosos hallazgos fuera del área original (Salomón y de Roodt 2001; Murúa y col. 2002; Fernández Campon y Lagos Silnik 2009; Alvarez Parma y Palladino 2010; Blanco y col. 2016; Ezquer y col. 2016) estimándose que en esos casos, la especie podría haber sido transportada, colonizando así ambientes altamente urbanizados (Acosta 2005).

El ingreso y desplazamiento de *T. trivittatus* en la provincia de Jujuy estaría vinculado a la red vial nacional (rutas 34 y 66) y rutas provinciales, las cuales unen las ciudades más pobladas de la provincia: San Salvador de Jujuy, Palpalá, El Carmen, San Pedro de Jujuy y Libertador General San Martín, donde se encontraron los ejemplares de esta especie.

La ruta nacional 34, es la vía que atraviesa las yungas jujeñas y conduce al norte de Salta y a la frontera con Bolivia. Los ejemplares obtenidos se registraron en localidades cercanas al límite con la provincia de Salta (La Ovejería y Puesto Viejo) y las ciudades de San Pedro de Jujuy y Libertador General San Martín (Figura 1). Si bien no existe bibliografía que registre esta especie en Salta, reportes del Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Salta (2011) informaron su presencia.

Es importante destacar que en la ciudad de San Pedro de Jujuy la dispersión se habría realizado de sur a norte y de oeste a este colonizando la mayoría de los barrios de la ciudad. Los terrenos baldíos ubicados en cercanías a los ingresos a la ciudad favorecen la acumulación de toda clase de desechos. Estos ambientes brindan condiciones óptimas para sus

presas, especialmente cucarachas, favoreciendo la vida y reproducción de los escorpiones. En Libertador General San Martín, solo se notificaron dos ejemplares en las zonas cercanas a las vías férreas, constituyendo hasta el presente, el registro más septentrional (23° 48' Lat. Sur) en Argentina de *T. trivittatus*. Se da a conocer por primera vez la distribución espacial de *T. trivittatus* en la provincia de Jujuy.

T. confluens y *T. trivittatus* serían especies oportunistas (Lourenço y Cuellar 1995), con gran capacidad para dispersarse y podrían proliferar rápidamente por las condiciones partenogenéticas que ambas tienen (Toscano-Gadea 2004; Lourenço 2008; Seiter 2012) y su adaptación a medios antrópicos.

T. argentinus, habita en las provincias del noroeste argentino. Esta especie es considerada de menor interés sanitario, porque el cuadro clínico es leve y no existen hasta el presente, registros de envenenamientos graves.

En Jujuy, el 98% de los ejemplares procede de las instituciones de la capital, evidenciando su preferencia por la zona de los Valles. La localidad de Los Alisos es un nuevo registro a la distribución conocida (Ojanguren Affilastro 2005; Neder de Román y col. 2007).

Los ejemplares obtenidos de hallazgos y accidentes, confirman la coexistencia de las tres especies en los dos ecorregiones, pero con valores distintos de abundancia. *T. confluens* y *T. trivittatus*, importantes por su rol en la salud pública, se concentran en la zona de las Yungas, mientras que *T. argentinus* domina en los Valles.

Está bien documentado a nivel mundial que el escorpionismo es un fenómeno multifactorial. Entre los factores determinantes figuran la ubicación geográfica, la estructura socio-económica, la especie de escorpión y las condiciones meteorológicas (Ozkan y col. 2008). Estas últimas solo recientemente han merecido atención, siendo usadas para conocer su incidencia sobre los casos de escorpionismo (Chowell y col. 2005; Molae y col. 2014; Selmane y L'hadj, 2014). Estos trabajos coinciden en que la temperatura ambiental es el factor ecológico esencial con respecto a la biología de los escorpiones. La mayor incidencia de picaduras de escorpiones está correlacionada con un aumento de la temperatura.

En el presente estudio, el aumento de la temperatura ambiente coincidió con un aumento diario en el número de escorpiones (hallazgos y accidentes) en ambas ecorregiones. Esta

correlación positiva se debería a que los escorpiones son animales poiquiloterms y dependen de la temperatura ambiental para su actividad metabólica y reproductiva.

El número de escorpiones, muestra un patrón estacional que está correlacionado con las temperaturas medias. La mayor abundancia se da a fines de la primavera en los Valles debido a *T. argentinus*, mientras que en las yungas la mayor abundancia de escorpiones (*T. confluens* y *T. trivittatus*) ocurre en el verano en San Pedro de Jujuy, y en el otoño en Libertador General San Martín. En esta última localidad los valores de las temperaturas medias otoñales (19,6 °C) son significativamente mayores a los registrados en los Valles (15,1 °C). El otoño de Libertador General San Martín registra temperaturas medias semejantes a la primavera de los Valles (20,4 °C).

En las Yungas, en otoño e invierno, el número de escorpiones duplica al registrado en Valles. Sólo en los Valles existe correlación positiva ($p < 0,01$), aunque muy baja, entre las precipitaciones y el total de escorpiones por día. En ambas regiones los pobladores relacionan la aparición de escorpiones con las lluvias. Esto se debería a que en época lluviosa (verano), el suelo se satura de agua y la humedad sube, obligando a estos artrópodos a salir de sus refugios (debajo de pisos de madera, en grietas del suelo, etc.) posibilitando mayores oportunidades de contacto con el ser humano.

Si se analizan los escorpiones del género *Tityus* a nivel provincial se puede establecer su presencia a lo largo de todo el año en coincidencia con lo establecido en otras regiones del país (Stetson 2002; de Roodt y col. 2003; Piola 2009; Reggiardo Blanca 2012; Llebeili 2016). En el período más cálido (octubre-abril) se obtuvo el 87% de los escorpiones, valor superior a los registros de otras provincias del centro y norte del país: 84% (de Roodt y col. 2003) y ciudad de Buenos Aires: 83% (Blanco y col. 2016).

Este es el primer intento de monitorear estadísticamente la incidencia de la temperatura media y las precipitaciones en la aparición de escorpiones. Es necesario profundizar el análisis de otras variables climáticas (temperaturas máximas y mínimas, evaporación, humedad, velocidad del viento, horas de luz solar, etc.) para poder predecir los accidentes por picaduras de escorpiones a fin de planificar estrategias que reduzcan el número de casos en la población de la provincia de Jujuy.

Los datos aquí presentados, están relacionados con ambientes antrópicos. Los registros obtenidos permiten establecer que las especies se distribuyen en áreas urbanizadas localizándose principalmente en los centros demográficos más importantes de Jujuy, como también fue registrado para la ciudad de Buenos Aires y conurbano bonaerense (Salomón y de Roodt 2001).

Los registros intradomiciliarios representaron el 92% de las notificaciones, similar a los datos obtenidos por el Centro Nacional de Intoxicaciones para el año 2010 (Docampo 2014). El predominio de ejemplares en horas de la madrugada y la mañana se debería a sus hábitos nocturnos y su desplazamiento en busca de alimento. Al alejarse de sus refugios naturales ingresan a lugares de encuentro con el hombre (Acosta 2005).

Hubo predominio en los dormitorios (46%) en camas, calzado y ropas que están en contacto con el suelo y paredes; también se los encontró en otros lugares de las viviendas como baño, cocina, lavadero, comedor, etc. Estos datos difieren de las denuncias registradas en la ciudad de Buenos Aires donde sólo el 20% de los hallazgos ocurrió en el dormitorio y el resto en otros ambientes de la casa (80%) (Salomón y de Roodt 2001).

En el ambiente peridomiciliario (8%) se encontraron ejemplares principalmente en patios, jardines, veredas, galerías, etc.

Con respecto a la edad de los accidentados, la mayor parte se produce entre los jóvenes y adultos aunque la mortalidad pediátrica es diez veces mayor (de Roodt y col. 2003; Piola y col. 2006; Chipaux y Goyffon 2008; Casas y col. 2012). La gravedad del cuadro depende de varios factores entre ellos la edad, siendo más grave la toxicidad en los niños, ancianos y sujetos con patologías de base como hipertensos y cardiopatas (Saracco y col. 2006).

En Argentina, desde 1928 a 1992 se citaron 7 muertes por escorpionismo (Maury 1997); en el período 1993-2012 se describieron más de 30 casos fatales, en su gran mayoría (96%) en menores de 10 años, provocados por *T. trivittatus* (de Roodt y col. 2003; de Roodt 2014, 2015; Tomassone y col. 2003; Blanco y col. 2016) y *T. confluens* (de Roodt y col. 2009; de Roodt 2015).

En el presente estudio los casos de escorpionismo pediátrico representaron el 25% del total de los accidentados, manteniéndose sin cambios en los años siguientes 2014-2016

(Boletín Epidemiológico de la Provincia de Jujuy 2016). Estos altos valores también se registraron en otras instituciones estatales como el Centro Nacional de Intoxicaciones (36%) en el año 2010 (Docampo 2014). Los niños menores de siete años constituyen el grupo más vulnerable (Cupo y col. 2009). En Jujuy, esta franja etaria representa el 8,3% de los casos coincidiendo con los registros del Centro de Control de Intoxicaciones de la Universidad de San Pablo, Brasil (8,9%). Es de destacar el único caso de escorpionismo grave en una niña de 4 años de Libertador General San Martín, derivada a la Unidad de Terapia Intensiva del Hospital de Niños de San Salvador de Jujuy. Esta paciente no fue incluida en la presente investigación por tratarse de un caso sospechoso, sin el ejemplar agresor, pudiendo atribuirse a *T. confluens*, especie dominante en dicha ciudad.

El rango etario comprendido entre los 8 y 15 años representó en este estudio el 17% valor superior al obtenido en el Centro de Intoxicaciones brasileño antes mencionado (14%) (Cupo y col. 2009).

Un pequeño número de casos graves con óbitos fue descrito en adolescentes (Chipaux y Goyffon 2008). En Argentina, de Roodt (2014) refiere los primeros casos graves en pacientes no pediátricos (adolescente y adulto).

En adultos accidentados, el rango etario más afectado fue de 26 a 35 años, decreciendo el número de accidentes a medida que avanza la edad. Estos valores, coincidentes con de Roodt (2003), sugieren que el riesgo de sufrir un envenenamiento grave disminuye con la edad.

En relación a la distribución por sexo los accidentes predominaron en mujeres (66%), lo que sumado a la ocurrencia intradomiciliaria podría estar relacionado a actividades de orden y limpieza de la vivienda coincidente con datos nacionales (Boletín Integrado de Vigilancia 2013).

El conocimiento de la distribución espacial de las tres especies de *Tityus* en la provincia de Jujuy es importante para una estricta vigilancia epidemiológica de los casos de escorpionismo. La amplia distribución de *T. confluens* sumada al ingreso y colonización de *T. trivittatus* convierten a la provincia de Jujuy en un área de mayor riesgo, debiéndose focalizar la atención sanitaria, a fin de evitar potenciales casos graves de escorpionismo. Este es el primer estudio que integra aspectos taxonómicos y epidemiológicos en esta provincia.

Agradecimientos. A todo el Personal de Salud de Guardia de los hospitales: San Roque, Héctor Quintana, Oscar Orías y Guillermo Paterson por el apoyo brindado, en la conservación de los ejemplares de escorpiones aportados por los accidentados y la comunidad en general. A la empresa Ledesma (Ing. Fada) y a la Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu (Ings. Hurtado y Riquelme) por proporcionar los valores de temperaturas y precipitaciones. A la Msc. María Elena Marcoleri de Olguín, UNJu, por la realización del análisis estadístico de los datos.

Bibliografía citada

Acosta L.E. Escorpiones: escorpiones o alacranes. En: Salomón O.D., editor. Artrópodos de interés médico en Argentina. Buenos Aires: Fundación Mundo Sano; 2005. p. 21-27

Acosta L.E., Maury E.A. Escorpiones. En: Morrone J.J. y Coscarón S. editores, Biodiversidad de artrópodos argentinos: Una perspectiva biotaxonomía. La Plata: Ediciones Sur; 1998. p. 232-240.

Alvarez Parma J., Palladino C.M. Envenenamiento por escorpión en la Argentina. Arch Argent Pediatr. 2010;108(2):161-170.

Blanco G., Laskowicz R.D., Scarlatto E., Casas N., Costa de Oliveira V., Lanari L.C., Lago N.R., de Roodt A.R. Increased incidence of *Tityus trivittatus*. Envenoming in the City of Buenos Aires. Toxicon 2012;60(2):188.

Boletín de Vigilancia Ministerio de Salud. Argentina. Presidencia de la Nación 2010; SE 1-02-10.

Boletín Epidemiológico de la provincia de Jujuy Ministerio de Salud. Jujuy. 2016; 2 - SE 28 Julio.

Boletín Integrado de Vigilancia Ministerio de Salud. Argentina. Presidencia de la Nación. 2013; 174 – SE 23- Junio: 105-117.

Camargo F.J., Ricciardi A. Sobre la presencia de un escorpión *Tityus serrulatus* Lutz e Mello (Scorpiones, Buthidae) en la ciudad de Corrientes. En: Universidad Nacional del Nordeste, editora. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Corrientes, Argentina: UNNE; 2000. p. 1-3.,

Chippaux J.P., Goyffon, M. Epidemiology of scorpionism: A global appraisal. Acta Tropica. 2008;107:71-79

Casas N., Geffner L., Echenique H., Costa de Oliveira V., de Roodt A.R. Epidemiologic Situation of Envenomation by Venomous Animals in Argentina. 2007-2011 period. Toxicon. 2012;60(2):238-239.

Censo 2010. Dirección Provincial de Estadísticas y Censos. Jujuy. Argentina.

Chowell G., Hyman J.M., Díaz-Dueñas P., Hengartner N.W. Predicting scorpion sting incidence in an endemic region using climatological variables. Int J Environ Health Res. 2005;15:425-435.

Cupo, P., de Azevedo-Marques, M.M., Hering, S.E. Escorpionismo. En Cardoso J.L.C., França F.O.S., Wen F.H., Málaque C.M.S., Haddad V. Jr., editores. Animais Peçonhentos no Brasil—Biologia, Clínica e terapêutica dos Acidentes. S. Paulo, Brasil: Sarvier Ltda.; 2009. p. 214-224.

De Roodt A.R. Comments on Environmental and Sanitary Aspects of the Scorpionism by *Tityus trivittatus* in Buenos Aires City, Argentina. Toxins (Basel). 2014;6:1434-52.

De Roodt A.R. Veneno de escorpiones (alacranes) y envenenamiento. Acta Bioquím Clín Latinoam. 2015;49(1):55-71.

De Roodt A.R., García S.I., Salomón O.D., Segre L., Dolab J.A., Funes R.F., de Titto E.H. Epidemiological and clinical aspects of scorpionism by *Tityus trivittatus* in Argentina. Toxicon. 2003;1(8):971-977.

De Roodt A.R., Lago N.R., Salomón O.D., Laskowicz R.D., Neder de Román L.E., López R.A., Montero T.E., Vega V. A new venomous scorpion responsible for severe envenomation in Argentina: *Tityus confluens*. Toxicon. 2009;53(1):1-8.

De Roodt A.R., Lanari L.C., García S.I., Costa de Oliveira V., Casas N., de Titto E.H. Accidentes y óbitos por envenenamiento por animales venenosos-ponzoñosos en Argentina en el período 2000–2011. Acta Toxicol Argent. 2013;21(Supl):100-101.

De Roodt A.R., Coronas F.I.V., Lago N., Gonzalez M.E., Laskowicz R.D., Beltramino J.C., Saavedra S., López R.A., Reati G., Vuchar-

chuc M.G., Bazán E., Varni L., Salomon O.D., Possani L.D. General, biochemical and immunological characterization of the venom from the scorpion *Tityus trivittatus* of Argentina. *Toxicon*. 2010;55(2-3):307-319.

De Roodt A.R., Oliveira V., García S. Accidentes por animales venenosos comunicados al Ministerio de Salud de la Nación en el período 2005-2009. *Acta Toxicol Argent*. 2010;18(Supl.):63.

Docampo P.C. Escorpionismo. Registro de consultas médicas en el Centro Nacional de Intoxicaciones: período 2000-2010. *Acta Toxicol Argent*. 2014;22(1):1-6.

Docampo P.C., Fernández M.E. Escorpionismo: presentación de un posible caso grave ocurrido en la Ciudad de Buenos Aires. *Acta Toxicol Argent*. 2011;19(1):16-18.

Ezquer M.R., Villarreal M., Muntaner J. Escorpionismo en pediatría en Tucumán: análisis descriptivo de casos en un hospital de segundo nivel de complejidad. *Arch Argent Pediatr*. 2016; 114(6):413-416.

Fernández Campón F., Lagos Silnik S. Primer registro de *Tityus trivittatus* (Scorpiones: Buthidae) en la provincia de Mendoza (Argentina) *Rev Soc Entomol Argent*. 2009;68(1-2):219-221.

Laskowicz R., Scarlato E., Lanari L., Blanco G., Lago N., de Roodt A.R. Localización geográfica de ejemplares de *Tityus trivittatus* hallados en la ciudad de Buenos Aires. *Acta Toxicol Argent*. 2011;19(Supl.):94-95.

Llebeili R. Escorpionismo enfermedad emergente. *Actas XXXIV Jornadas Argentinas Interdisciplinarias de Toxicología*. Córdoba, 2016.

Lourenço W.R., O. Cuellar. 1995. Scorpions, scorpionism, life history strategies and parthenogenesis. *J Venom Anim Toxins*. 1995;1(2):51-62.

Lourenço W R. Parthenogenesis in scorpions: some history - new data. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2008;14(1):19-44.

Maury E.A. Guía para la identificación de los escorpiones de la provincia de Buenos Aires. Sección Aracnología. Museo Argentino de

Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" e Inst. Nac. De Investigaciones e las Ciencias Naturales. Buenos Aires, 1986.

Maury E. *Tityus trivittatus* en la Argentina: Nuevos datos sobre su distribución, partenogénesis, sinantropía y peligrosidad (Scorpiones, Buthidae). Publicaciones de extensión cultural y didáctica del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia". 1997;24:1-24.

Murúa F., Acosta E., Acosta J.C., Coria, C. Primeros registros de *Tityus trivittatus* Kraepelin (Scorpiones, Buthidae) en el oeste argentino. *Multequina*. 2002;11:75-78.

Ministerio de Salud de la Nación. Guía de Prevención, Diagnóstico, Tratamiento y Vigilancia Epidemiológica del Envenenamiento por Escorpiones. Ministerio de Salud. Buenos Aires. Argentina, 2011.

Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Salta. Secretaria de Comunicación. [en línea] Medidas de prevención contra la picadura de Alacranes. 2011. [Consulta 20 de enero de 2017] Disponible en: <http://www.salta.gov.ar/prensa/noticias/medidas-de-prevencion-contra-la-picadura-de-alacranes/12882>.

Molae S.M., Ahmadi K.A., Vazirianzadeh B., Moravvej S.A. A climatological study of scorpion sting incidence from 2007 to 2011 in the Dezful area of southwestern Iran, using a time series model. *J Insect Sci*. 2014;14(151):1-6.

Neder de Román L.E., Montero T.E. y Arce de Hamity M.G. Los escorpiones de Jujuy. Serie Educativa del Instituto de Biología de la Altura. Universidad Nacional de Jujuy. 2007.

Ojeda M.A. Estudio multicéntrico Beca Carrillo Oñativia. Distribución de las especies de escorpiones de importancia médica, epidemiología y mapas de riesgo intraurbano de escorpionismo en nueve provincias. Informe final. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. 2014.

Ojeda M.A., Neder de Román L.E. Escorpiones de importancia sanitaria en la provincia de Jujuy. *Actas IX Congreso Argentino de Entomología*. Misiones. 2015;10:34.

Ojanguren-Affilastro A.A. Estudio monográfico de los escorpiones de la República Argentina Rev Ibérica de Aracnol. 2005;11:75-241.

Ozkan O., Uzun R., Adiguzel S., Cesaretli Y., Ertex M. Evaluation of scorpion Sting incidence in Turkey. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2008;14(1):126-140.

Piola J.C. Nuevos comentarios sobre el incremento del escorpionismo. Sertox. Rosario. 2009. [consulta 20 de enero de 2017]. Disponible en: <http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=554>.

Piola J.C., Prada D.B., Waksman J.C., Evangelista M. Increase mortality and morbidity from *Tityus trivittatus* envenomation in Argentina. Clin Toxicol. 2006;44,650.

Reggiardo Blanca, M del P. Escorpionismo en la ciudad de Paraná Año 2010. Rev Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes 2012;7(3):38-41.

Seiter M. Developmental Stages and Reproductive Biology in *Tityus confluens* Borelli, 1899 and *Tityus ocelote* (Francke & Stockwell, 1987) (Scorpiones, Buthidae) Rev Ibérica Aracnol. 2012;21:113-118.

Salomón O.D., de Roodt A.R. Escorpiones: denuncia espontánea en dos centros de referencia de la ciudad de Buenos Aires, 1997-2000. Medicina. 2001;61(4):391-396.

Saracco A.S., de Roodt A.R., Cabrera A.M., García S.I. Escorpionismo. Boletín de la Asociación Toxicológica Argentina. 2006;20(71):17-23.

Selmane S., L'hadj M. Regression Analysis on scorpion envenomation and climate variables in M'Sila province, Algeria from 2001 to 2010. [en línea] International Journal of Mathematics trends and Technology. 2014,13(1):1-9. [consulta 10 de enero 2017] Disponible en: <http://www.ijmtjournal.org/archive/ijmtt-v13p501>.

Stetson R.E. Accidentes con escorpiones en la ciudad de Posadas, provincia de Misiones, Argentina, durante el año 2002. Biota Neotrop. 2005;5(1). [consulta 4 de noviembre de 2016] Disponible en: <http://www.biotaneotropica.org.br/v5n1a/pt/abstract?short-communication+bn015051a>.

Tomassone R., Vainstub V., Peirano S. Envenenamiento grave por escorpión en Pediatría. Arch Argent Pediatr. 2003;101:392-397.

Toscano-Gadea C.A. Confirmation of Parthenogenesis in *Tityus trivittatus* Kraepelin 1898 (Scorpiones, Buthidae). J Arachnol. 2004;32:866-869.

IMÁGENES EN TOXICOLOGÍA

Particulate matter inside of the alveolar macrophage Material particulado dentro del macrófago alveolar

Falcon-Rodriguez, Carlos Ivan^{1,2,3*}; García-Alonso, Larisa Idania^{2,3}; Segura-Medina, Patricia².

¹Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM. Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria. Delegación Coyoacán. Código Postal 04510. México, Ciudad de México. ²Departamento de Investigación en Hiperreactividad Bronquial, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, INER. Dr. Ismael Cosío Villegas, Secretaria de Salud. Calz. de Tlalpan 4502. Col. Belisario Domínguez Sección XVI. Delegación Tlalpan. Código Postal 14080. México, Ciudad de México. ³Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM. Ciudad Universitaria, Circuito Exterior s/n, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510. Ciudad de México, México.

*cirf84@hotmail.com

Recibido: 23 de septiembre de 2016

Aceptado: 25 de mayo de 2017

Abstract. The inhalation of toxic environmental particles is a worldwide public health issue. To avoid the pulmonary damage, the lungs contain the alveolar macrophages, which are the primary defense of the innate immune system, since it engulfs the toxic or allergic particles. Morphologically, particulate matter inside of macrophage is observed as numerous round dark granules of various size. In guinea pig, the inhalation of fine particles in real time showed single round dark granules inside of the macrophages. After particles exposure, the alveolar macrophage can activate some cytokines such as TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, and GM-CSF, which increases the inflammatory response or to activate the Th2 response. The alveolar macrophage interacts with bronchial and bronchiolar epithelium, heart, and blood vessels producing a variety of problems, such as nonfatal heart attacks, irregular heartbeat, decreased lung function, and increases respiratory symptoms such as irritation of the airways, coughing or difficulty breathing, aggravated asthma, and produce premature death in people with heart or lung disease.

Keywords: Bronchoalveolar lavage; Phagocytosis; Particulate matter; Air pollution.

Resumen. La inhalación de partículas tóxicas ambientales es un problema de salud pública en todo el mundo. Para prevenir el daño, los pulmones contienen a los macrófagos alveolares, los cuales son la defensa primaria del sistema inmune, ya que fagocitan los tóxicos o partículas alérgicas. Morfológicamente, el material particulado dentro de los macrófagos alveolares se observa como numerosos gránulos redondos de varios tamaños. En cobayos, la inhalación de partículas finas en tiempo real mostró gránulos redondos oscuros dentro de los macrófagos. Después de la exposición a las partículas, el macrófago alveolar puede activar algunas citocinas como TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, and GM-CSF, las cuales incrementan la respuesta inflamatoria o activan la respuesta Th2. El macrófago alveolar interactúa con el epitelio bronquial y bronquiolar, corazón y vasos sanguíneos, produciendo una variedad de problemas, tales como afecciones cardíacas, arritmias, disminución de la función pulmonar, e incrementa los síntomas respiratorios como irritación de las vías respiratorias, tos, dificultad para respirar, agrava el asma y produce muertes prematuras en personas con enfermedades cardíacas y pulmonares.

Palabras clave: Lavado broncoalveolar; Fagocitosis; Material particulado, Contaminación atmosférica.

Introduction

The inhalation of toxic environmental particles is a world-wide public health issue (Hiraiwa and van Eeden 2013). These particles may be made up metals, metalloids, nonmetals, internal transitional elements (Kleeman et al. 1999; Minguillón et al. 2012), sulfate, nitrate, and ammonium ion (Kleeman et al. 1999), organic and elemental carbon (Simoneit et al.

2004), lipids, endotoxins, fungal spores, pollens (Monn and Koren 1999) and viruses (Phalen and Phalen 2012). To avoid the pulmonary damage, the lung presents various cells, the most important is the alveolar macrophage, since is the primary defense of the innate immune system, keep the alveolar-blood barrier interface, clearing the air spaces of infectious,

and engulfs toxic or allergic particles (Rubins 2003). In the alveolar region, particles whose diameter is $>8\ \mu\text{m}$ are phagocytized, this size range is efficient for uptake a bacteria (Phalen and Phalen 2012). Furthermore, fine particles ($>100\ \text{nm}$ or $>0.1\ \mu\text{m}$) are also readily phagocytized by alveolar macrophage (Takenaka et al. 2001). However, previous studies showed that instilled colloidal carbon particles ($30\ \text{nm}$ or $0.03\ \mu\text{m}$) can be present in the macrophages (Takenaka et al. 2001). Interestingly, it was evidenced that ultrafine particles smaller than $0.1\ \mu\text{m}$ in diameter are not efficiently phagocytized. This effect is due to their smaller chemical or physical signals. What is certain is that, the macrophage must recognize a cer-

tain particles size to initiate engulfment (Phalen and Phalen 2012). Morphologically, particulate matter inside of the macrophage is observed as numerous round dark granules of various size (aggregated) (Gottipolu et al. 2009). This event occurs when agglomerated ultrafine particles are administrated intratracheally or high concentrations are inhaled; then PM is phagocytized by alveolar macrophages. In a guinea pig model, the inhalation during 36 h (4 h/9 days) of fine particles from México City in real time showed single round dark granules inside of the macrophage in the bronchoalveolar lavage (Figure 1). Also, the number of the alveolar macrophages increased in the pulmonary alveolus in these animals.

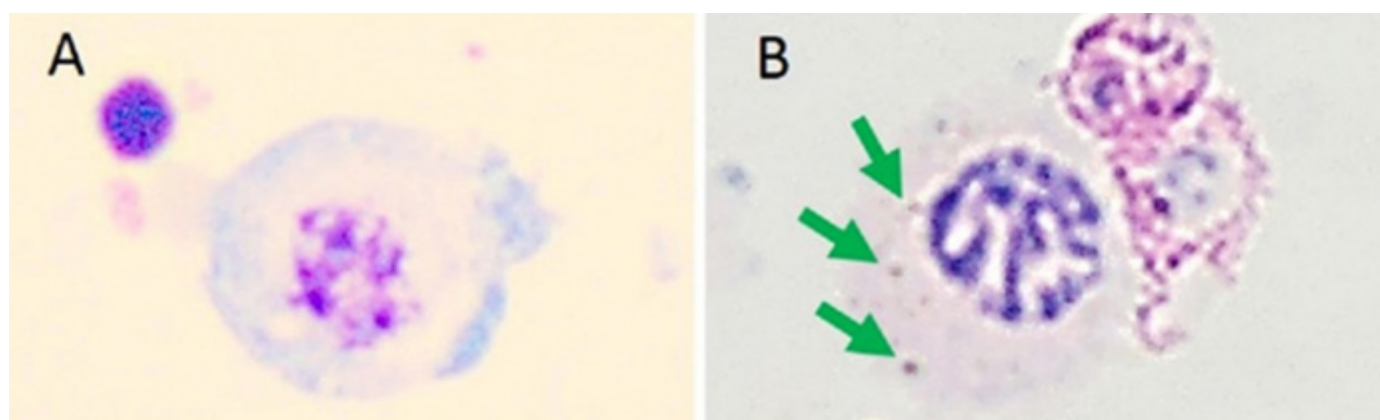


Figure 1. The macrophages in the bronchoalveolar lavage. A) Guinea pigs who inhaled filtered air. B) Guinea pig exposed to fine particles from México City. Green arrows show the fine particles inside of macrophages. 850X. Original images obtained of our research.

After PM exposure, the macrophage is capable of producing pulmonary inflammatory mediators such as $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , IL-8 , and GM-CSF (Hiraiwa and van Eeden 2013). Human acute exposure of PM showed increased levels of IL-1 and IL-6 . These cytokines are similar to those produced by the alveolar macrophage exposed to PM both *ex vivo* and *in vivo* (Hiraiwa and van Eeden 2013). Mediators such as GM-CSF , IL-1 , and IL-6 increases the inflammatory response characterized by an increase in circulating leukocytes, platelets, and proinflammatory and prothrombotic proteins (Hiraiwa and van Eeden 2013). In sometimes, the alveolar macrophage is activated to “M2 polarization,” which induce Th2 cytokines (IL-4 and IL-13) (Hiraiwa and van Eeden 2013), this response is associated

with the allergic disease as asthma. The alveolar macrophage interacts with bronchial, bronchiolar, and alveolar epithelium, producing a variety of problems, such as aggravated asthma, decreased lung function, as well as, increased respiratory symptoms, as irritation of the airways, coughing or difficulty breathing or to increase other pulmonary diseases. Particles also produces heart, and blood vessels damage, producing premature death in people with heart disease or nonfatal heart attacks, (EPA 2016).

Acknowledge. The first author wishes to thank CONACyT for the Ph.D. scholarship #233789, and Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, for the training received during doctoral studies and to thank the Secretaría de Ciencia y Tecnología (SECITI) of CDMX, grant numbers 014/2014. Authors want to thank to Jonathon Shacat B.A. for his English editing.

References

- Donaldson K., Stone V., Clouter A., Renwick L., MacNee W. Ultrafine particles. *Occup Environ Med.* 2001;58(3):211-216.
- Environmental Protection Agency (EPA). Particulate Matter (PM) Pollution. Available at: <https://www.epa.gov/pm-pollution/particulate-matter-pm-basics>. Washington, DC: Environmental Protection Agency; c2016-03 [updated January 17th, 2017; accessed April 25th, 2017].
- Gottipolu R.R., Wallenborn J.G., Karoly E.D., Schladweiler M.C., Ledbetter A.D., Krantz T., Linak W.P., Nyska A., Johnson J.A., Thomas R. One-month diesel exhaust inhalation produces hypertensive gene expression pattern in healthy rats. *Environ Health Perspect.* 2009;117(1):38.
- Hiraiwa K., van Eeden S.F. Contribution of lung macrophages to the inflammatory responses induced by exposure to air pollutants. *Mediators Inflamm.* 2013;2013
- Kleeman M.J., Schauer J.J., Cass G.R. Size and Composition Distribution of Fine Particulate Matter Emitted from Wood Burning, Meat Charbroiling, and Cigarettes. *Environ Sci Technol.* 1999;33(20):3516-3523.
- Minguillón M.C., Querol X., Baltensperger U., Prévôt A.S.H. Fine and coarse PM composition and sources in rural and urban sites in Switzerland: Local or regional pollution? *Sci Total Environ.* 2012;427-428:191-202.
- Monn C., Koren H.S. Bioaerosols in ambient air particulates: a review and research needs. *Rev Environ Health.* 1999;14(2):79-90.
- Phalen R.F., Phalen R.N. Introduction to air pollution science: a public health perspective. 1. United State of America. 2012.
- Rubins J.B. Alveolar Macrophages. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167(2):103-104.
- Schwartz J., Neas L.M. Fine Particles Are More Strongly Associated than Coarse Particles with Acute Respiratory Health Effects in Schoolchildren. *Epidemiology.* 2000;11(1):6-10.
- Simoneit B.R., Kobayashi M., Mochida M., Kawamura K., Lee M., Lim H.J., Turpin B.J., Komazaki Y. Composition and major sources of organic compounds of aerosol particulate matter sampled during the ACE-Asia campaign. *J Geophys Res Atmos.* 2004;109(19): D19S10.
- Takenaka S., Karg E., Roth C., Schulz H., Ziesenis A., Heinzmann U., Schramel P., Heyder J. Pulmonary and systemic distribution of inhaled ultrafine silver particles in rats. *Environ Health Perspect.* 2001;109(4):547.

RESÚMENES DE TESIS

Aislamiento y caracterización de la miotoxina I del complejo *Bothrops neuwiedi* (yarára chica)

Geoghegan, Patricia Andrea

Servicio Inmunoterapéuticos -Centro Nacional de Control de Calidad de Biológicos- ANLIS Dr. Carlos Malbrán
pgeoghegan@anlis.gov.ar

En Argentina, más del 97% de los accidentes ponzoñosos son producidos por serpientes del género *Bothrops*, siendo aquellas pertenecientes al complejo *Bothrops neuwiedi* unas de las de mayor incidencia. El envenenamiento por esta especie es similar al descrito para otras especies *Bothrops* de América, presentando en el individuo accidentado daño tisular considerable: dolor, inflamación, edema, exudación, mionecrosis, problemas en la coagulación y hemorragias importantes.

Del veneno entero del complejo *Bothrops neuwiedi* se aisló una proteína básica por cromatografía de intercambio iónico y RP-HPLC, la que se denominó Miotoxina I. Esta proteína provocó edema, miotoxicidad local cuando se la ensayó en ratones, citotoxicidad en cultivos celulares y alteración a nivel de la coagulación sanguínea, con potencia comparable al de otros venenos del género *Bothrops*.

Con el objeto de determinar en qué medida esta toxina era importante en el daño que provoca el veneno entero de serpientes del complejo *Bothrops neuwiedi* cuando se produce un accidente ofídico, se caracterizó la misma a nivel bioquímico determinando las siguientes actividades: letal, necrótica, hemorrágica, miotóxica, edematizante, desfibrinogenante, citotóxica y enzimática (fosfolipasa A₂).

Al inyectar dosis de hasta 4,4 mg/kg de peso de ratón por vía endovenosa, se observó que la toxina no era letal, a su vez no produjo necrosis ni hemorragia, como se observa cuando se inyecta el veneno crudo, tampoco se detectó actividad fosfolipasa A₂ cuando se la ensayó sobre fosfolípidos de yema de huevo.

Sin embargo, sí se observó un aumento de la enzima creatinina kinasa (CK) debido al daño producido en tejido muscular, y de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) cuando se la inoculó a líneas celulares endoteliales (t-END) y mioblastos (C2C12) de ratón, observándose

un daño en la monocapa celular a partir de las 3H de inoculada la toxina.

A nivel sanguíneo se pudo determinar que esta nueva toxina posee actividad anticoagulante en un porcentaje menor al que provoca el veneno entero cuando es inoculado.

Con el fin de determinar su peso molecular se realizó una electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecyl sulfato de sodio, donde se observó que la Miotoxina I de BnC aparecía, al colorear el gel, como un homodímero de 15 kD. Al realizar una inmunodifusión en gel de agarosa, se observó que existe un patrón de identidad antigénica parcial entre esta nueva miotoxina aislada y la miotoxina II del veneno de la especie *Bothrops asper* de Costa Rica.

A su vez, se secuenciaron los primeros 40 residuos aminoacídicos de esta miotoxina, lo que demostró una alta homología con varias miotoxinas fosfolipasas A₂ clase II, de la familia de las Lys-49, de crotálidos.

Estos resultados en conjunto sugieren que esta toxina es un nuevo miembro de las fosfolipasas A₂ Lys-49, con actividades: miotóxica, citolítica e inflamatoria por inducción de edema y con actividad anticoagulante probablemente por el consumo de fibrinógeno en el torrente sanguíneo.

Tesis para acceder al grado de Magister en Microbiología molecular. Universidad de San Martín. ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"
Directora: Dra. Susana Laucella (CONICET)

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

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

Las imágenes en Toxicología pueden corresponder a imágenes relacionadas con la toxicología, desde lo artístico a los aspectos biológicos: plantas tóxicas, hongos tóxicos, animales venenosos, animales ponzoñosos, floraciones algales, químicos, alteraciones ambientales, casos clínicos, diagnóstico por imágenes (radiografía, electrocardiogramas, ecografías, angiografía, tomografía, resonancia magnética, microscopía óptica o electrónica, etc.).

El objetivo de la Sección Imágenes en Toxicología es la publicación de imágenes originales

(1-2 figuras de alta calidad) o clásicas interesantes o hallazgos inusuales que faciliten el diagnóstico clínico, de laboratorio o eco-epidemiológico de causas con origen toxicológico. Las imágenes pueden no ser excepcionales, pero sí ilustrativas.

El título debe ser corto y descriptivo. Si la imagen es una imagen clínica, el texto debería ser una descripción de la presentación del paciente seguida por puntos relevantes explicativos y el diagnóstico final. Las imágenes deberían incluir una leyenda descriptiva. Si la imagen corresponde a otros puntos de la toxicología, se debe incluir una breve descripción del contexto de la misma en el texto.

Por favor, utilice flechas o signos para identificar los puntos de interés en la imagen. En los casos clínicos remueva cualquier información de identificación del paciente.

El máximo de palabras recomendado es: resumen 200, texto 1000 y no más de 12 referencias.

Se aceptará un máximo de 3 autores por imagen.

En caso que la imagen no sea original, debe acompañarse de la autorización del propietario o de quien posea los derechos de la misma, lo que debe estar indicado en la nota que se presente al Comité Editorial de Acta Toxicológica Argentina.

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

Acta Toxicológica Argentina (en adelante *Acta*), publicará contribuciones en español, portugués y/o inglés. Todas serán evaluadas por al menos dos revisores; la selección de los mismos será atributo exclusivo de los editores. Este proceso determinará que el mencionado Comité opte por rechazar, aceptar con cambios o aceptar para su publicación el trabajo sometido a su consideración. La identidad de autores y revisores se mantendrá en forma confidencial.

Envío de manuscritos

El envío de manuscritos se realizará a través del Portal de Publicaciones Científicas y Técnicas (PPCT) del Centro Argentino de Infor-

mación Científica y Tecnológica (CAICYT). En la página web del PPCT-CAICYT <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/ata> se encuentran las instrucciones para los autores.

Gratuidad de las publicaciones

El envío, revisión, edición y publicación de cualquier tipo de material técnico científico o de divulgación aceptado por Acta Toxicológica Argentina es totalmente gratuito para los autores, no debiendo estos abonar ningún tipo de costo para su publicación ni para ninguna de las etapas previas.

Derechos de autor

Acta Toxicológica Argentina es una publicación de acceso abierto y posee una Licencia Pública de Creative Commons (CC-BY-NC). Los autores conservan los derechos de autor y garantizan a la revista el derecho de ser la primera publicación del trabajo. Los autores retienen el derecho sobre sus trabajos bajo las normas de la licencia CC de tipo BY-NC, [HYPERLINK "http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/"](http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/) Licencia Pública de Creative Commons que permite compartir el trabajo reconociendo su publicación inicial en esta revista, pudiendo los autores disponer del trabajo para el fin que consideren, con la sola excepción de su reproducción con fines comerciales, de acuerdo a este tipo de licencia de CC.

Derechos de publicación

Los autores retienen los derechos de publicación. Acta Toxicológica Argentina es una publicación de acceso abierto y posee una Licencia Pública de Creative Commons (CC-BY-NC). Los autores conservan los derechos de publicación y garantizan a la revista el derecho de ser el primer sitio de publicación del trabajo. Los autores retienen el derecho para publicar sus trabajos bajo las normas de la licencia CC de tipo BY-NC, [HYPERLINK "http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/"](http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/) Licencia Pública de Creative Commons que permite compartir el trabajo reconociendo su publicación inicial en esta revista, pudiendo los autores disponer del trabajo para el fin que consideren, con la sola excepción de su reproducción con fines comerciales, de acuerdo a este tipo de licencia de CC.

Aspectos generales en la preparación del manuscrito para artículo original

Los manuscritos deberán redactarse con procesador de texto (Microsoft Word versión 2003 o superior), a doble espacio (incluso los resúmenes, referencias y tablas) con un tamaño mínimo de letra Arial en 12 puntos. Las páginas deberán numerarse desde la portada. Las letras en negrita o itálica se usarán sólo cuando corresponda.

En la primera página se indicará: título del trabajo, nombres y apellidos completos de todos los autores; lugar de trabajo (nombre de la institución y dirección postal); de haber autores con distintos lugares de trabajo se colocarán superíndices numéricos -no encerrados entre paréntesis- junto a los nombres, de manera de identificar a cada autor con su respectivo lugar de trabajo; fax y/o correo electrónico del autor responsable de la correspondencia (que se indicará con un asterisco en posición de superíndice ubicado junto al nombre).

En la segunda página se incluirá el título en inglés y el resumen en el idioma del artículo y en inglés, seguido cada uno de ellos de una lista de cuatro palabras clave, en el idioma correspondiente. Si el trabajo estuviese escrito en inglés, deberá tener un resumen en español. Las palabras clave iniciarán con mayúscula e irán separadas por punto y coma.

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

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

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

Análisis estadístico. Se deberán informar las pruebas estadísticas con detalle suficiente como para que los datos puedan ser verificados por otros investigadores y fundamentar el empleo de cada una de ellas. Si se utilizó un

programa estadístico para procesar los datos, éste deberá ser mencionado en esta sección.

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

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

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

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

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

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

Unidades de medida. Las medidas de longi-

tud, talla, peso y volumen se deberán expresar en unidades métricas (metro, kilogramo, litro) o sus múltiplos decimales.

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

Todos los valores de parámetros hematológicos y bioquímicos se presentarán en unidades del sistema métrico decimal, de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). No obstante, los editores podrán solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores añadan unidades alternativas o distintas de las del SI.

Nomenclatura. En el caso de sustancias químicas se tomará como referencia prioritaria a las normas de la IUPAC. Los organismos se denominarán conforme a las normas internacionales, indicando sin abreviaturas el género y la especie en itálica.

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

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

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

Ejemplos:

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

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

Las referencias bibliográficas completas se incluirán al final del manuscrito bajo el título de Bibliografía Citada, en orden alfabético, con el

nombre de todos los autores en cada caso.

Ejemplos:

1. **Artículo estándar en publicación periódica**

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

2. **Libros y monografías**

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

3. **Capítulo de libro**

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

4. **Material electrónico**

a. Artículo en publicación periódica en internet

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [en línea]. 2002 Jun. [consulta 12 de Agosto 2002];102(6):[1 p.].

Disponible en: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htmArticle>

B. Página en internet

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

c. Parte de una página de internet

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

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

INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS

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

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

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

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

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

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

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

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

Images in Toxicology may be images related with Toxicology from the artistic to the biological and medical aspects: toxic plants, toxic fungi, venomous animals, poisonous animals, algal bloom, chemicals, environmental ecotoxicological alterations, clinic cases, diagnostic images (radiograph, electrocardiogram, echography, angiography, tomography, magnetic resonance Image, optic or electron microscopy, etc).

The objective of the Section of Images in Toxicology is the publication of original images (1-2 high quality figures) of classic, interesting or unusual findings that facilitate the clinical, laboratorial or eco-epidemiological diagnosis of toxicological origin.

Such images should be not necessarily exceptional, but illustrative.

The title should be short and descriptive. If the image is a clinic image, text should be a description of the patient presentation, followed by relevant explicative points and the final diagnosis. Images should include a descriptive legend. If the image is of other fields of the toxicology, a brief description of the context should be included in the text.

Please use labels and arrows to identify points of interest on the image. In clinical cases remove any identifying patient information.

Maximum word guidance: abstract 100 words, text 1000 words. The number of references should not be over 12.

No more than three authors may be listed.

If the image is not original, the authorization of the author or whom poses the copyright must be added in the presentation letter to be presented to the Editorial Committee of *Acta Toxicológica Argentina*.

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

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

Submission of manuscripts

Submission of manuscripts will be made through the Portal de Publicaciones Científicas y Técnicas (PPCT) of the Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT). Instructions for authors will be found at the *Acta-PPCT-CAICYT* web page <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/ata>

Free publishing costs

The submission, reviewing, editing and publishing of any kind of scientific or technical material or of any disclosure material accepted by

Acta Toxicological Argentina is totally free for authors, not having to pay any cost for its publication or for any of the previous stages.

Copyright

Acta Toxicológica Argentina is an open access journal and has a Creative Commons Public License (CC-BY-NC). Authors retain copyright on their work; nevertheless, they guarantee the journal the right to be the first in its publication. Authors retain the rights of their work under the guidelines of the license CC BY-NC, Creative Commons Public License. They can freely share their work (always recognizing its initial publication in this journal) with the sole exception of its reproduction for commercial purposes, according to this kind of CC license.

Publishing rights

Acta Toxicológica Argentina is an open access journal and has a Creative Commons Public License (CC-BY-NC). Authors retain the license of their article and the publication rights on their work; nevertheless, they guarantee the journal the right to be the first in its publication. Authors retain the license and rights to their work under the guidelines of the license CC BY-NC, Creative Commons Public License. They can freely share their work (recognizing its initial publication in this journal) with the sole exception of reproduction of the work published for commercial purposes, according to this kind of CC license.

General guidelines in the preparation of manuscripts for original articles

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

First page should contain the article title, full name and affiliations of all authors, workplace (name of institution and postal address; if it differs between authors, numerical superscripts, not in parentheses, next to each author should be used to identify it); fax and/or e-mail address of the corresponding author (signaled by

a subscript asterisk next to the name).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

References. Citations in the text consist of the authors' last name (up to two authors) and the year of publication in parentheses. In the case of more than one citation, list them from the

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

Examples:

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

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

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

Examples:

1. **Standard article in periodical publications**

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

2. **Books and monographs**

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

3. **Book chapters**

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

4. **Electronic material**

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

B. Website

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

c. Partial website

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

For correct citation please refer to the “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” proposed by the International Committee of Medical Journals Directors, available at: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

Imagens em Toxicologia podem corresponder a imagens relacionadas com a toxicologia, desde o artístico aos aspectos biológicos: plantas tóxicas, fungos tóxicos, animais venenosos, animais peçonhentos, florações de algas, químicos, alterações ambientais, casos clínicos, diagnóstico por imagens (radiografia, eletrocardiogramas, ecografias, angiografia, tomografia, ressonância magnética, microscopia óptica ou eletrônica, etc.).

O objetivo da Sessão Imagens em Toxicologia é a publicação de imagens originais (1-2 figuras de alta qualidade) ou clássicas interessantes

ou achados pouco usuais que facilitem o diagnóstico clínico, laboratorial ou eco epidemiológico de causas com origem toxicológica.

As imagens não devem ser excepcionais, mas sim ilustrativas.

O título deve ser curto e descritivo. Se a imagem é uma imagem clínica, o texto deveria ser uma descrição da apresentação do paciente seguida por pontos relevantes explicativos e o diagnóstico final. As imagens deveriam incluir uma legenda descritiva. Se a imagem corresponde a outros pontos de toxicologia, se deve incluir uma breve descrição do contexto da mesma no texto.

Por favor, utilize flechas ou símbolos para identificar os pontos de interesse na imagem. Nos casos clínicos remova qualquer informação de identificação do paciente.

O máximo de palavras recomendado é: Resumo 200, Texto 1000 e não mais de 12 referências.

Não deve haver mais de três (3) autores.

No caso que a imagem não seja original, deve ser acompanhada de autorização do proprietário ou de quem possua os direitos da mesma, o que deve estar indicado na nota que apresentada ao Comitê Editorial da Acta Toxicológica Argentina.

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

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

Envio de trabalhos

O envio de manuscritos será realizado através do Portal de Publicações Científicas e Técnicas (PPCT) do Centro Argentino de Informação Científica e Tecnológica (CAICYT). Na página web do PPCT-CAICYT <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/ata> estão apresentadas as instruções para autores.

Custos de publicação gratuitos

O envio, revisão, edição e publicação de qualquer tipo de material de divulgação científica ou técnica aceita pela Acta Toxicológica Argentina é livre para os autores, não ter que pagar qualquer custo para publicação ou qualquer das fases anteriores.

Direitos autorais

Acta Toxicológica Argentina é uma open access publicação com uma Licença Pública Creative Commons (CC-BY-NC). Autores mantêm seus direitos autorais e garantir a o revista o direito de ser a primeira em publicação da obra. Autores mantêm os direitos a seu trabalho sob as regras da licença CC BY-NC, Licença Pública Creative Commons para a partilha de trabalho, reconhecendo sua publicação inicial nesta revista. Os autores são livres para usar a obra para qualquer fim, menos comercial, de acordo com este tipo de licença CC.

Os direitos de publicação

Acta Toxicológica Argentina é uma open access publicação com uma Licença Pública Creative Commons (CC-BY-NC). Autores mantêm seus direitos de publicação e licença e garantir a o revista o direito de ser a primeira em publicação da obra. Autores mantêm os direitos a seu trabalho sob as regras da licença CC BY-NC, Licença Pública Creative Commons para a partilha de trabalho, reconhecendo sua publicação inicial nesta revista. Os autores são livres para usar a obra para qualquer fim, menos comercial, de acordo com este tipo de licença CC.

Aspectos gerais na preparação do trabalho como artigo original

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

Na primeira página deverá estar indicado: título do trabalho, nomes e sobrenomes completos de todos os autores; lugar de trabalho (nome da instituição e endereço postal), se houver autores com distintos lugares de trabalho, deverão ser colocados superíndices numéricos, não entre parênteses, junto aos nomes, para identificar cada autor com seu respectivo lugar

de trabalho; fax e/ou correio eletrônico do autor responsável correspondente (que será indicado com um asterisco na posição de super-índice localizado junto ao nome).

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

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

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

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

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

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

As **tabelas** deverão ser apresentadas em folha à parte, numeradas consecutivamente com números arábicos, com as aclarações correspondentes. Os avisos para esclarecimentos de rodapé deverão ser realizados empregando números arábicos entre parênteses e super-índice. Somente as bordas externas da primeira e última linhas e a separação entre os títulos das colunas e os dados deverão ser marcados com linha contínua. Não marcar as bordas das colunas. Assegurar-se de que cada tabela seja citada no texto.

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

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

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

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

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

Unidades de medida. As medidas de longitude, tamanho, peso e volume deverão ser expressas em unidades métricas (metro, quilograma, litro) ou seus múltiplos decimais. As temperaturas serão expressas em graus Celsius e as pressões arteriais em milímetros de mercúrio. Todos os valores de parâmetros hematológicos e bioquímicos deverão ser apresentados em unidades do sistema métrico decimal, de acordo com o Sistema Internacional de Unidades (SI). Não obstante, os editores poderão solicitar que, antes de publicar o artigo, os autores agreguem unidades alternativas ou diferentes das do SI.

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

espécie em itálico.

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

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

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

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

Exemplos:

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

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

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

Exemplos:

1. Artigo padrão em publicação periódica

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

2. Livros e monografias

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

3. Capítulo de livro

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

4. Material eletrônico

a. Artigo em publicação periódica em internet

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

b. Página de internet

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

c. Parte de uma página de internet

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

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